

**Utilização de semente de linho vs. banha em dietas para  
coelhos em crescimento suplementadas com alfarroba**

**Efeitos no perfil de ácidos gordos e estabilidade oxidativa da carne**

**Tânia Sofia Faria Ferreira**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Engenharia Zootécnica – Produção Animal**

Orientador: Doutora Luísa Almeida Lima Falcão e Cunha

Co-orientador: Doutor Rui José Branquinho Bessa

**Júri:**

Presidente: Doutor João Pedro Bengala Freire, Professor Catedrático do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: Doutor José António Mestre Prates, Professor Catedrático da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa

Doutora Luísa Almeida Lima Falcão e Cunha, Professora Associada com agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Doutor Rui José Branquinho Bessa, Professor Auxiliar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa

Doutora Maria Madalena dos Santos Lordelo, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Lisboa, 2013

## **Agradecimentos**

À Professora Doutora Luísa Falcão por ter aceite a orientação deste trabalho e pelo interesse que demonstrou ao longo da sua realização. Quero expressar o meu agradecimento pela motivação, acolhimento e disponibilização de recursos durante a concretização dos trabalhos experimentais e por todo o apoio que me foi dado ao longo deste percurso.

Ao Professor Doutor Rui Bessa por ter aceite a coorientação deste trabalho, pela disponibilidade que sempre demonstrou em auxiliar a realização das atividades laboratoriais e pela forma crítica com que analisou esta dissertação.

A todos aqueles que apoiaram a realização do ensaio e das atividades laboratoriais.

No Instituto Superior de Agronomia, não posso deixar de agradecer a todos os funcionários do Departamento de Produção Animal - ao Eng.<sup>o</sup> Bruno Correia, pelo apoio que demonstrou ao longo de todo o trabalho; à Eng.<sup>a</sup> Patrícia Bandeira e à Sr.<sup>a</sup> D.<sup>a</sup> Lurdes, pelo apoio e pela forma como me receberam durante a realização do trabalho de laboratório; e ainda à Sr.<sup>a</sup> D.<sup>a</sup> Lúcia Forte e Sr.<sup>a</sup> D.<sup>a</sup> Cesaltina Pires, que prestaram uma ajuda indispensável aquando o abate dos animais.

Na Faculdade de Medicina Veterinária, à Doutora Susana Alves, pelo apoio que demonstrou na análise do perfil lipídico e pelo tempo que disponibilizou para a leitura das amostras; à Doutora Cristina Alfaia e à Doutora Eliana Jerónimo, pela disponibilização de recursos e pela disponibilidade que sempre tiveram para esclarecer as minhas dúvidas; à Professora Doutora Maria João Fraqueza e à Eng.<sup>a</sup> Maria José Fernandes do laboratório de Tecnologia do Departamento de Produção Animal e Segurança Alimentar, por me terem recebido durante a realização das análises laboratoriais.

A todos os Professores, quer do ISA, quer da FMV, que foram essenciais ao longo de todo o percurso académico e que contribuíram para a minha formação.

Às minhas colegas e amigas Sílvia Duarte, Maaïke Smits e Rita Cruz, que sempre estiveram disponíveis para ajudar com os animais. E ainda à Isaura Cardoso, Susana Ferreira, Filipa Duarte, Mónica Ferreira, Susana Andrade e Lúcia Carreira. A todas elas, ficam as saudades dos tempos académicos.

À Marisa, ao Vando e à Sara, que estiveram disponíveis para me ouvir e ajudar com alguns pormenores do presente trabalho.

E, porque os últimos são sempre os primeiros, aos meus pais, José e Regina, que tudo fizeram para que eu seguisse este caminho com sucesso; ao meu irmão, Pedro, por me ter sempre acompanhado e apoiado, à Madalena e ao meu afilhado Martim, por estarem sempre presentes. E ao Nuno, pelo apoio e sobretudo pela paciência que tem comigo, nos bons e maus momentos.

## **Resumo**

Com o objetivo de avaliar o efeito da natureza da gordura e da alfarroba sobre o crescimento dos coelhos, perfil de ácidos gordos e suscetibilidade da carne à oxidação, formularam-se quatro dietas –linho sem alfarroba (LL), linho com alfarroba (LA), banha sem alfarroba (BB) e banha com alfarroba (BA). As dietas foram distribuídas a 48 coelhos (12 por dieta), alojados individualmente, dos 28 aos 70 dias de idade.

A natureza da gordura não teve efeito sobre o peso dos animais, enquanto a presença de alfarroba afetou ( $P=0,002$ ) o IC (2,72 e 2,89 para dietas sem e com alfarroba, respetivamente).

A digestibilidade aparente da GB foi superior ( $P<0,0001$ ) nas dietas com linho (90,2 e 84,4%, com linho e com banha, respetivamente). A inclusão de alfarroba nas dietas reduziu ( $P<0,0001$ , em ambos os casos) a digestibilidade da MO (61,1 e 64,3% sem e com alfarroba, respetivamente) e da PB (78,7 e 69,8%, sem e com alfarroba, respetivamente).

A composição em ácidos gordos da carne foi afetada pela natureza da gordura – as dietas com banha aumentaram a concentração de AGS (23 vs. 32,7% do total de ácidos gordos), enquanto as dietas com linho aumentaram os PUFA, incluindo os n-3, (22,4 vs. 52,6% para os PUFA e 2,3 vs. 33,3% para os n-3 PUFA).

A suscetibilidade à oxidação induzida foi superior nas dietas LL (37,3; 29,3; 13,8 e 23,4 mg MDA  $\text{kg}^{-1}$  de carne para LL, LA, BB e BA). Não se verificou atividade antioxidante da alfarroba.

**Palavras-chave:** Ácidos gordos, antioxidante, coelho, dietas, natureza da gordura, oxidação.

## **Abstract**

To compare the effect of nature of fat and carob on rabbit's productive parameters, digestive performance, fatty acid profile and meat susceptibility to oxidation, four experimental diets was formulated – linseed without carob (LL), linseed with carob (LA), lard without carob (BB) and lard with carob (BA). Diets were distributed to 48 rabbits (12 per diet), housed individually, from 28 to 70 days old.

The source of fat had no effect on the animals live weight, while the presence of carob affected ( $P=0,002$ ) the conversion ratio (2,72 and 2,89 for diets without and with carob, respectively).

The apparent digestibility of crude fat was higher ( $P<0,0001$ ) in linseed diets (90,2 and 84,4% for linseed and lard diets, respectively). The inclusion of carob negatively affected ( $P<0,0001$ , in both cases) the organic matter digestibility (64,3 and 61,1% for diets without and with carob, respectively) and crude protein (78,7 and 69,8% for diets without and with carob, respectively).

The fatty acid composition of meat was affected by the source of fat – lard diets increased the saturated fatty acids concentration (23 vs. 32,7% of total fatty acids), while linseed diets increased polyunsaturated fatty acids, including n-3 family (22,4 vs. 52,6% for PUFA and 2,3 vs. 33,3% for n-3 PUFA).

Induced oxidation susceptibility was higher in LL diets (37,3; 29,3; 13,8 and 23,4 mg MDA  $\text{kg}^{-1}$  of meat to LL, LA, BB and BA diets, respectively). There was no antioxidant activity of carob.

**Key-words:** Antioxidant, diet, fat source, fatty acid, oxidation, rabbit.

## **Extended abstract**

To compare the effect of nature of fat and carob on rabbit's productive parameters, digestive performance, fatty acid profile and meat susceptibility to oxidation, four experimental diets was formulated – linseed without carob (LL), linseed with carob (LA), lard without carob (BB) and lard with carob (BA). Diets were distributed to 48 rabbits (12 per diet), housed individually, from 28 to 70 days old.

The source of fat had a significant effect ( $P=0,02$ ) on the daily intake in 1<sup>st</sup> period (28-42 days old) with 119 g d<sup>-1</sup> for diets with lard and 108,7 g d<sup>-1</sup> for diets with linseed. The presence of carob increased ( $P=0,002$ ) feed intake in 1<sup>st</sup> period, with 14,2 g of difference between diets with and without carob. For total period, BA diets promoted a daily intake of 167,5 g d<sup>-1</sup> as compared to 145,4; 148 and 145,2 g d<sup>-1</sup> observed in the LA, LL and BB diets, respectively. Carob presence affected feed conversation ratio in the 2<sup>nd</sup> (42-70 days old) and total period (2,72 and 2,89 for diets without and with carob, respectively, considering total period).

The source of fat affected ( $P=0,049$ ) the daily weight gain (55,5 g d<sup>-1</sup> and 52,3 g d<sup>-1</sup> for lard and linseed diets, respectively), but had no effect on the animals live weight.

The apparent digestibility of crude fat was higher ( $P<0,0001$ ) in linseed diets (90,2 and 84,4% for linseed and lard diets, respectively), whereas lard diets led to greater ( $P=0,012$ ) NDF digestibility (28,5 and 31,2% for linseed and lard diets, respectively).

Carob inclusion negatively affected ( $P<0,0001$  for both cases) the organic matter digestibility (64,3 and 61,1% for diets without and with carob, respectively) and crude protein digestibility (78,7 and 69,8% for diets without and with carob, respectively). The decrease in digestibility caused by the carob inclusion was more pronounced when the source of fat was lard. Carob inclusion had a positive effect ( $P=0,001$ ) on cellulose digestibility (24,5 and 29,7% for diets without and with carob, respectively).

The weight of a full and empty stomach and his content were higher in lard diets (34,4 and 40,6 g kg<sup>-1</sup> for a full stomach, 26,5 and 31,9 g kg<sup>-1</sup> for stomach content, 7,8 and 8,8 g kg<sup>-1</sup> for empty stomach, for linseed and lard diets, respectively). Carcass yield was higher ( $P=0,022$ ) in diets without carob (63,9 and 62,3% for diets without with carob). Other parameters like liver and caecum weight and stomach ph were not affected by the source of fat and carob inclusion.

Analyzing fibrolytic activity and volatile fatty acids were obtained, as a result, two interactions. The first interaction was verified in the pectinolytic activity – carob presence increased activity when fat was lard (146; 114; 112,8 and 122,4 mg sugar h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> DM for BA, BB, LA and LL diets, respectively). The second was verified in the butyric acid concentration, where the

carob inclusion caused a decrease when the source of fat was linseed (12,8; 16,1; 16 and 15,7% for LA, LL, BA and BB diets, respectively).

The amount of total fatty acids was not affected either by the source of fat or by carob presence. However, lard caused an increase of saturated fatty acids, especially 16:0 acid (23,8; 23,8; 16,8 and 16,1% for BA, BB, LL and LA diets, respectively). It has been found for delta-9 desaturase products that the carob presence appeared to inhibit enzyme activity when the fat was linseed – tannins may somehow modulate delta-9 desaturase activity. The n-3 polyunsaturated fatty acids (18:3 n-3, 20:3 n-3, 20:5 n-3, 22:5 n-3 and 22:6 n-3) were positively affected ( $P<0,0001$ ) by linseed, with 18:3 n-3 acid concentrations reaching 30,6 and 30,7% for LA and LL diets against 1,8% obtained in BA and BB diets, respectively.

The n-6 polyunsaturated fatty acids (20:2 n-6, 22:4 n-6 and 22:5 n-6) have been positively affected by lard.

The total of the saturated fatty acids was affected ( $P<0,0001$ ) by the lard (23 and 32,7% for linseed and lard diets respectively), while the total of polyunsaturated fatty acids, including n-3 family, was positively affected ( $P<0,0001$ , for both cases) by linseed (52,6 and 22,4% for linseed and lard diets, respectively and 33,3 and 2,3% for n-3 PUFA for linseed and lard diets, respectively).

Induced oxidation susceptibility was higher in LL diets (37,3; 29,3; 13,8 and 23,4 mg MDA  $\text{kg}^{-1}$  meat for LL, LA, BB and BA diets, respectively). Potential antioxidant activity of carob was not verified.

The source of fat did not affected plasmatic cholesterol concentration. However, carob presence led to an increase in this concentration when the fat was lard (47,8; 52,8; 81,8 and 61,6 mg cholesterol  $\text{dl}^{-1}$  of blood).

**Key-words:** Antioxidant, diet, fat source, fatty acid, oxidation, rabbit.

## **Índice**

<b>Introdução .....</b>	<b>1</b>
<b>Revisão bibliográfica .....</b>	<b>2</b>
1. Qualidade da carne de coelho .....	2
1.1. Composição química.....	3
1.1.1. Proteínas .....	4
1.1.2. Minerais .....	5
1.1.3. Vitaminas.....	6
1.1.4. Lípidos .....	7
2. Gorduras na alimentação de coelhos .....	11
2.1. Classificação de lípidos.....	11
2.2. Digestibilidade e absorção de gorduras.....	13
2.2.1.Efeito da gordura sobre a digestibilidade da dieta .....	15
2.2.2.Efeito da gordura sobre a qualidade da carcaça .....	16
3. Manipulação da composição lipídica através da dieta .....	17
3.1. A semente de linho como fonte de gordura insaturada .....	17
4. Oxidação lipídica.....	19
4.1. Antioxidantes.....	22
4.1.1.A alfarroba como antioxidante.....	25
5. Objetivos .....	27
 <b>Material e métodos .....</b>	 <b>28</b>
1. Dietas e delineamento experimental .....	28
2. Animais e procedimentos.....	32
3. Análises químicas .....	33
3.1. Determinações analíticas dos alimentos e fezes .....	33
3.2. Determinação da atividade fibrolítica do conteúdo cecal .....	35
3.3. Determinação dos ácidos gordos voláteis do conteúdo cecal .....	36
3.4. Determinação da oxidação lipídica da carne .....	36
3.5. Determinação do colesterol plasmático .....	37
3.6. Determinação dos ácidos gordos das dietas e do músculo .....	38
4. Cálculos .....	39



4.1. Performances zootécnicas.....	39
4.1.1. Aumento de peso diário .....	39
4.1.2. Índice de conversão .....	39
4.1.3. Rendimento em carcaça .....	39
4.2. Digestibilidade fecal aparente .....	39
4.2.1. Coeficiente de utilização digestiva .....	39
4.3. Perfil de ácidos gordos da carne.....	40
5. Análise estatística .....	40
<b>Apresentação de resultados .....</b>	<b>42</b>
1. Performances zootécnicas.....	42
2. Digestibilidade fecal aparente.....	44
3. Rendimento em carcaça e desenvolvimento do trato digestivo .....	46
4. Conteúdo cecal – atividade fibrolítica e ácidos gordos voláteis .....	47
5. Perfil de ácidos gordos da carne .....	48
6. Oxidação lipídica.....	53
7. Colesterol plasmático.....	54
<b>Discussão de resultados .....</b>	<b>55</b>
1. Performances zootécnicas.....	55
2. Rendimento em carcaça e peso dos órgãos digestivos .....	56
3. Digestibilidade fecal aparente, atividade fibrolítica e ácidos gordos voláteis .....	57
4. Perfil de ácidos gordos da carne .....	60
5. Oxidação lipídica .....	65
6. Colesterol plasmático.....	66
<b>Conclusões e considerações finais .....</b>	<b>68</b>
<b>Referências bibliográficas.....</b>	<b>69</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>81</b>
I. Ficha técnica Valomega .....	81
II. Determinação da oxidação lipídica após indução in vitro .....	82

III.	Transesterificação direta de amostras não liofilizadas.....	84
IV.	Efeito da natureza da gordura e da inclusão de alfarroba na ingestão de alimento e no crescimento, desde o desmame até ao abate 28-70 dias (valores médios).....	85
V.	Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba no coeficiente de utilização digestiva aparente (%) das várias frações da dieta, obtido a partir das fezes recolhidas na 8ª semana de idade (valores médios) .....	86
VI.	Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba no rendimento em carcaça e peso dos órgãos digestivos .....	87

## **Lista de quadros**

<b>Quadro 1</b> - Recomendações diárias e composição química da carne de coelho por 100 g de carne fresca.....	4
<b>Quadro 2</b> – Aminoácidos essenciais da carne de coelho em g / 100 g de carne .....	5
<b>Quadro 3</b> – Recomendações diárias (mg) e composição em minerais da carne de coelho em mg / 100 g de carne fresca.....	6
<b>Quadro 4</b> – Teor de ácidos gordos (em % dos ácidos gordos totais) da carne de coelho, suíno, bovino e aves .....	8
<b>Quadro 5</b> – Perfil de ácidos gordos, em média, da carcaça de coelho fresca e do músculo <i>Longissimus lumborum</i> .....	9
<b>Quadro 5 (continuação)</b> – Perfil de ácidos gordos, em média, da carcaça de coelho fresca e do músculo <i>Longissimus lumborum</i> .....	10
<b>Quadro 6</b> – Estrutura química dos ácidos gordos com maior representatividade nos óleos e gorduras . .....	12
<b>Quadro 7</b> – Composição centesimal (%) das dietas experimentais.....	29
<b>Quadro 8</b> – Composição química (% MS) das dietas experimentais .....	30
<b>Quadro 9</b> – Perfil de ácidos gordos (% de ácidos gordos totais) das dietas experimentais e teor de ácidos gordos totais (mg /100 g de alimento) .....	31
<b>Quadro 10</b> – Efeito da natureza da gordura e da inclusão de alfarroba na ingestão de alimento e no crescimento, desde o desmame até ao abate (28-70 dias) .....	43
<b>Quadro 11</b> – Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba no coeficiente de utilização digestiva (%) das várias frações da dieta, obtido a partir das fezes recolhidas durante a 8ª semana de idade .....	45
<b>Quadro 12</b> – Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba sobre o rendimento em carcaça, peso do trato digestivo e pH estomacal (valores médios).....	46

<b>Quadro 13</b> – Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba sobre o pH, os AGV e a atividade enzimática do conteúdo cecal, recolhido após o abate .....	47
<b>Quadro 14</b> – Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba no perfil de ácidos gordos (%) da carne de coelho, a partir de amostras de <i>Longissimus dorsi</i> , e na quantidade de ácidos gordos totais (mg / g de carne).....	48
<b>Quadro 14 (continuação)</b> – Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba no perfil de ácidos gordos (%) da carne de coelho, a partir de amostras de <i>Longissimus dorsi</i> , e na quantidade de ácidos gordos totais (mg / g de carne) .....	49
<b>Quadro 15</b> – Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba sobre a quantidade (%) de AGS, <i>cis</i> MUFA, PUFA n-3 e n-6, rácio n-6 / n-3 e P / S .....	52
<b>Quadro 16</b> – Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba na oxidação lipídica induzida no músculo <i>Longissimus dorsi</i> .....	53
<b>Quadro 17</b> – Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba na concentração plasmática de colesterol nos coelhos (colheitas feitas após o abate).....	54

## **Lista de figuras**

<b>Figura 1</b> – Evolução da produção mundial (em número de cabeças de coelho e lebre) nos principais países produtores.....	3
<b>Figura 2</b> – Classificação de lípidos .....	11
<b>Figura 3</b> – Digestão e absorção de triglicéridos em monogástricos.....	14
<b>Figura 4</b> – Esquema geral da oxidação lipídica .....	20
<b>Figura 5</b> – Comparação dos valores de oxidação, medida através do índice de TBARS (mg MDA / kg de carne), da carne de coelho, frango, bovino e suíno .....	22
<b>Figura 6</b> – Classificação e definição de taninos .....	24
<b>Figura 7</b> – Curva padrão obtida com o reagente 1,1,3,3 – Tetraetoxipropano .....	37
<b>Figura 8</b> – Efeito da presença de alfarroba (0 e 12%) na digestibilidade aparente da proteína bruta e da celulose (valores médios).....	59
<b>Figura 9</b> – Efeito da natureza da gordura na percentagem de ácidos gordos saturados, polinsaturados, LC – PUFA, n-6 e n-3 (valores médios).....	64
<b>Figura 10</b> – Efeito da natureza da gordura sobre os rácios n-6 / n-3 e P / S (valores médios).....	65

## Lista de abreviaturas

### Abreviaturas

a.C.	antes de Cristo
ADF	fibra detergente ácido
ADL	lenhina detergente ácido
AF	atividade fibrolítica
AG	ácidos gordos
AGS	ácidos gordos saturados
AGV	ácidos gordos voláteis
APD	aumento de peso médio diário
B	banha
BA	dieta experimental constituída por banha e 12% de alfarroba
BB	dieta experimental constituída por banha e 0% de alfarroba
C	carbono
CLA	isômeros conjugados de ácido linoleico
CUDap	coeficiente de utilização digestiva aparente
cv	coeficiente de variação
Cz	cinza
DDR	dose diária recomendada
DHA	ácido docosaheptaenóico
DNSA	3,5 ácido-dinitrosalicílico
EPA	ácido eicosapentaenóico
GB	gordura bruta
H	humidade
HDL	lipoproteínas de alta densidade
IC	índice de conversão
i.e.	isto é
L	linho
<i>L. lumbarum</i>	<i>Longissimus lumbarum</i>
LA	dieta experimental constituída por linho e 12% de alfarroba
LC	ácidos gordos de cadeia longa (do inglês <i>long chain</i> )
LD	<i>Longissimus dorsi</i>
LDL	lipoproteínas de alta densidade
LL	dieta experimental constituída por linho e 0% de alfarroba
MDA	malonaldeído
MO	matéria orgânica
MS	matéria seca

MUFA.....	ácidos gordos monoinsaturados (do inglês <i>monounsaturated fatty acid</i> )
n .....	número de observações
n-3.....	ácidos gordos ómega 3
n-6.....	ácidos gordos ómega 6
nd.....	não determinado
NDF .....	fibra detergente neutro
P .....	polinsaturados
PB.....	proteína bruta
PUFA .....	ácidos gordos polinsaturados (do inglês <i>polyunsaturated fatty acid</i> )
RC.....	rendimento em carcaça
S .....	saturados
SAS.....	statistical analysis systems®
TBA.....	ácido tiobarbitúrico
TBARS.....	thiobarbituric acid reactive substances
TCA.....	ácido tricloroacético
vs .....	versus

## Ácidos gordos

### Ácidos gordos de cadeia longa

20:4 n-6.....	ácido araquidónico
20:5 n-3.....	ácido eicosapentaenóico
22:5 n-3.....	ácido docosapentaenóico
22:6 n-3.....	ácido docosaheptaenóico

### Ácidos gordos essenciais

18:2 n-6.....	ácido linoleico
18:3 n-3.....	ácido linolénico

### Ácidos gordos octadecenóicos

18:1 <i>cis</i> -9 .....	ácido oleico
18:1 <i>trans</i> -9 .....	ácido elaídico
18:1 <i>trans</i> -11 .....	ácido <i>trans</i> -vacénico
18:1 <i>cis</i> -11 .....	ácido vacénico

### Ácidos gordos ramificados

15:0 <i>iso</i> .....	ácido 13-metil-tetradecanóico
15:0 <i>anteiso</i> .....	ácido 12-metil-tetradecanóico
16:0 <i>iso</i> .....	ácido 14-metil-pentadecanóico
17:0 <i>anteiso</i> .....	ácido 14-metil-hexadecanóico

## Ácidos gordos saturados

10:0 .....	ácido decanoico
12:0 .....	ácido dodecanoico – ácido láurico
14:0 .....	ácido tetradecanoico – ácido mirístico
15:0 .....	ácido pentadecanoico
16:0 .....	ácido hexadecanoico – ácido palmítico
18:0 .....	ácido octadecanoico – ácido esteárico
20:0 .....	ácido eicosanoico
22:0 .....	ácido docosanoico

## Ácidos gordos voláteis

2:0 .....	ácido acético
3:0 .....	ácido propiónico
4:0 .....	ácido butírico

## Outros ácidos gordos referidos

14:1 <i>cis</i> -9
16:1 <i>cis</i> -7
16:1 <i>cis</i> -9
17:1 <i>cis</i> -9
18:1 <i>trans</i> -6 – <i>trans</i> -8
18:1 <i>trans</i> -10
18:1 <i>trans</i> -12
18:1 <i>cis</i> -12
18:1 <i>cis</i> -13
20:1 <i>cis</i> -9
20:1 <i>cis</i> -11
20:2 n-6
20:3 n-9
20:3 n-6
20:3 n-3
21:5
22:4 n-6
22:5 n-6



## Símbolos e unidades

%	percentagem
°C	grau Celsius
µg	micrograma
µl	microlitro
µm	micrómetro
µM	micromole
cm	centímetro
Co	cobre
CO <sub>2</sub>	dióxido de carbono
Cu	cobalto
d	dia
dl	decilitro
DPR	desvio padrão residual
Fe	ferro
g	grama
h	hora
HCl	ácido clorídrico
I	iodo
kg	quilograma
M	molar
m	metro
mg	miligrama
min	minuto
MJ	mega joule
ml	mililitro
mm	milímetro
mM	milimolar
mmol	milimoles
Mn	manganês
N	normalidade
nm	nanómetros
P	probabilidade de f
R <sup>2</sup>	coeficiente de correlação
rpm	rotações por minuto
Se	selênio
seg	segundo
UI	unidades internacionais
UV	ultravioleta
w	peso

Zn..... zinco  
 $\alpha$  ..... alfa

## **Introdução**

A sociedade moderna tem vindo a demonstrar uma preocupação crescente com os alimentos que ingere, estando cada vez mais atenta à sua proveniência, ao percurso que fazem até chegar ao consumidor e à sua qualidade. Esta preocupação surge não só do maior nível de conhecimento e instrução das novas gerações, como também da necessidade de combater as doenças que, hoje em dia, estão mais relacionadas com os hábitos alimentares. Neste grupo incluem-se, por exemplo, o risco de hipercolesterémia, as doenças cardiovasculares e o cancro.

O ácido  $\alpha$  – linolénico 18:3 n-3 é um polinsaturado ómega 3 essencial para o organismo. Este ácido gordo serve como precursor dos ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), cuja taxa de conversão é reduzida no organismo humano (Dalle Zotte, 2004). Os n-3 têm elevada importância para a saúde humana. A destacar, o ácido DHA que tem um papel importante no crescimento e desenvolvimento cerebral em crianças e na manutenção das suas funções aquando da idade adulta. Sabe-se ainda que existe uma correlação negativa entre o consumo de DHA e algumas patologias, tais como, trombozes, arritmias cardíacas, enfartes do miocárdio, hipertensão, artrites, aterosclerose e alguns tipos de cancro (Combes, 2004).

Entre as principais fontes de DHA destacam-se os peixes gordos (cerca de 10-19% dos ácidos gordos totais) e, em menor quantidade, os ovos e a carne (Combes, 2004). O DHA é praticamente indetetável nas carnes de porco e bovino, no entanto, está presente em valores consideráveis na carne de frango e de coelho (0,66% e 1,15% dos ácidos gordos totais, respetivamente), oscilando consoante a dieta dos animais (Combes, 2004).

A carne de coelho reúne algumas características que podem ser interessantes do ponto de vista nutricional. É uma carne magra, pobre em colesterol, sódio e ferro, rica em fósforo e, principalmente, com uma proporção de ácidos gordos saturados / insaturados benéfica para a saúde humana. No entanto, é necessário referir que quanto maior a quantidade de ácidos gordos insaturados, principalmente polinsaturados, maior a suscetibilidade da carne à oxidação. O fenómeno de oxidação altera não só a qualidade organolética da carne, como também o seu valor nutricional, podendo mesmo levar à formação de compostos nefastos para a saúde humana.

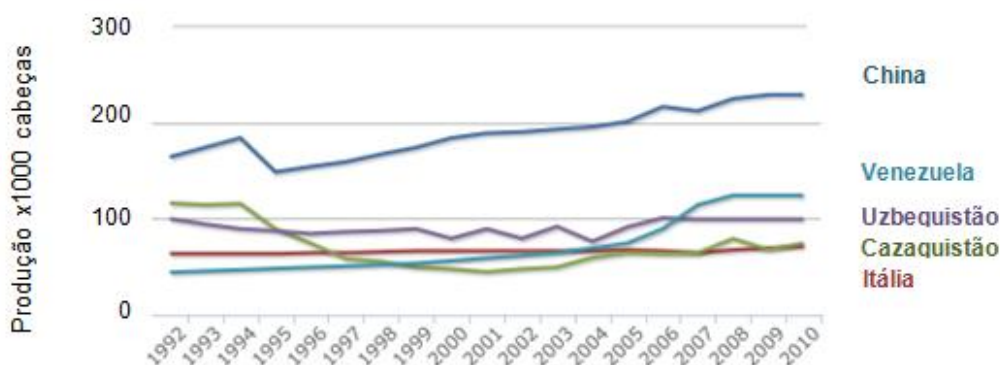
## **Revisão bibliográfica**

### **1. Qualidade da carne de coelho**

O conceito de qualidade da carne é evolutivo. Se, há apenas algumas décadas atrás, as principais preocupações eram a procura de carnes magras a um baixo preço, hoje em dia as necessidades dos consumidores são mais complexas. Passou a dar-se uma maior importância ao aspeto nutricional, através da avaliação do equilíbrio dos componentes essenciais da carne (lípidos, ácidos gordos, proteínas, minerais), às características sensoriais, à aptidão da carne para a transformação, mas também aos sistemas de produção e ao respeito pelo bem-estar animal (Dalle Zotte, 2002; Gigaud e Combes, 2008).

A qualidade da carne de coelho pode ser definida de diversas formas consoante os diferentes agentes económicos – produção, distribuição e consumidor (Dalle Zotte, 2002). Desta forma, o produtor e as cadeias de distribuição pretendem a satisfação dos seus objetivos económicos, atraindo o consumidor para a compra. No caso do consumidor, o mais importante é a qualidade da carne, onde se incluem as suas características nutricionais, mas também o aspeto, a tenrura e o sabor.

A carne de coelho reúne uma série de características interessantes, que vão de encontro às novas preocupações da sociedade - é uma carne magra, com uma elevada percentagem de ácidos gordos polinsaturados, pobre em colesterol e rica em fósforo, potássio e magnésio (Gigaud, 2006; Petracci *et al.*, 2009), pelo que seria de esperar que o seu consumo fosse crescente na população. No entanto, tal não se verifica e, como se pode visualizar na figura 1, a produção mundial de coelho e lebre tem sido relativamente constante nos últimos anos (FAOSTAT, 01-08-2012).



**Figura 1** - Evolução da produção mundial (em número de cabeças) de coelho e lebre, nos principais países produtores (dados FAOSTAT, 01-08-2012).

O mesmo cenário é, também, verificado ao nível da União Europeia, onde são os países mediterrânicos que possuem uma maior tradição na produção e no consumo deste tipo de carnes.

O não aumento do consumo da carne de coelho pode estar relacionado com o preço – 2 a 3 vezes superior ao preço do frango – mas também com a apresentação da carcaça. Os novos consumidores não se sentem atraídos por carcaças inteiras / metades, preferindo outros cortes, que facilitem a preparação, ou mesmo a sua inclusão em alimentos pré preparados (Hernández e Dalle Zotte, 2010).

O próximo passo dos produtores e cadeias de distribuição deveria passar pela criação de estratégias que aumentem o consumo deste tipo de carne, quer através da divulgação dos seus benefícios nutricionais, quer da implementação de estratégias comerciais que envolvam novos cortes de carcaça e produtos pré preparados.

### 1.1. Composição química

A composição química da carne de coelho – coxa e músculo *Longissimus dorsi* - apresenta-se no quadro 1.

**Quadro 1** – Recomendações diárias e composição química da carne de coelho por 100 g de carne fresca (cv – coeficiente de variação; n – números de valores retirados da bibliografia) (adaptado de Combes e Dalle Zotte, 2005).

	Água (g)	Energia (KJ)	Proteínas (g)	Lípidos (g)	Minerais (g)
<b>Recomendações diárias (Homem)<sup>1</sup></b>		8400	71-83	80-94	
<b>Valores por 100g</b>					
<b>Média<sup>2</sup></b>	72,5	725	21,0	5,0	1,2
<b>cv (n)</b>	3% (38)	19% (15)	7%(37)	67%(46)	12% (18)
<b>Coxa</b>	73,5	664	21,3	3,7	1,3
<b>cv (n)</b>	1% (9)	2% (3)	4% (9)	13% (11)	11% (5)
<b>Músculo LD<sup>3</sup></b>	75,0	603	22,4	1,4	1,2
<b>cv (n)</b>	1% (13)	- (1)	4% (11)	38% (12)	11% (5)

<sup>1</sup> Official Journal of the European Union, Regulation EU No 1169/2011 – Part B – Reference intake for energy and selected nutrients other than vitamins and minerals (adult).

<sup>2</sup> Valores médios dos diferentes componentes, independentemente da proveniência das amostras de carne.

<sup>3</sup> Músculo *Longissimus dorsi*.

### 1.1.1. Proteínas

A carne de coelho é rica em proteínas, tendo, em média, 21,3 g / 100 g, enquanto espécies como bovino, suíno e aves têm, respetivamente, 19,5; 18,5 e 20,1 g / 100 g (Dalle Zotte, 2004). Para além disso, a composição em aminoácidos, que se apresenta no quadro 2, é equilibrada e com um perfil semelhante ao das necessidades nutricionais do homem (Combes, 2004). Esta característica faz com que as proteínas tenham elevado valor biológico, tornando-as facilmente assimiláveis e aptas para a síntese de tecido muscular.

**Quadro 2** - Aminoácidos essenciais da carne de coelho em g / 100 g de carne (cv – coeficiente de variação) (Combes, 2004)

Aminoácido	Média (g / 100g)	cv (%)
Lisina	1,84	1
Metionina	0,54	-
Metionina + Cistina	1,10	-
Histidina	0,52	3
Treonina	1,11	6
Valina	0,98	1
Isoleucina	0,91	12
Leucina	1,80	0,24
Arginina	1,12	13
Tirosina	0,66	15
Fenilalanina	0,84	30
Triptofano	0,10	-

### 1.1.2. Minerais

A composição da fração mineral da carne de coelho, que se apresenta no quadro 3, é caracterizada por um baixo conteúdo em cálcio e em sódio, sendo, por isso, indicada para integrar dietas alimentares para hipertensos, cujos níveis de ingestão de sal são limitados. O teor de ferro também é reduzido, embora ainda não esteja aferida a sua biodisponibilidade, sendo necessários mais estudos que esclareçam quais as quantidades reais que estão presentes na carne (Combes, 2004). Por outro lado, o potássio e o fósforo são os minerais cujo teor é mais elevado. Para este último, a ingestão de 100 g de carne de coelho representa o suprimento de cerca de 37% das necessidades diárias, para um homem adulto (Combes, 2004).

No caso das carnes com maior consumo, os valores médios de sódio variam entre 68 mg, 70 mg e 75 mg / 100 g para suínos, bovinos e aves, respetivamente. No caso do potássio e do fósforo os valores médios são de 335 mg, 345 mg e 295 mg de potássio / 100 g de carne

e 191 mg, 172 mg e 190 mg de fósforo / 100 g, para cada uma das espécies referidas anteriormente (Combes e Dalle Zotte, 2005).

**Quadro 3** – Recomendações diárias (mg) e composição em minerais da carne de coelho em mg / 100 g de carne fresca (CV – coeficiente de variação; n – número de valores retirados da bibliografia) (adaptado de Combes, 2004).

Elemento mineral (mg)	Sódio	Magnésio	Fósforo	Potássio	Cálcio	Ferro	Cobre	Zinco	Selênio (µg)
<b>Recomendações diárias (Homem)<sup>1</sup></b>	-	375	700	2000	800	14	1	10	55
<b>Média<sup>2</sup></b>	49	24	277	364	16	1,4	0,33	0,69	77
cv (n)	25% (8)	28% (4)	25% (7)	21% (7)	44% (8)	52% (7)	122% (3)	- (1)	101% (2)
<b>Coxa (n)</b>	49 (2)	29 (1)	230 (1)	404 (2)	9,3 (1)	1,3 (1)	0,09 (1)	nd	nd
<b>Músculo L. <i>lumborum</i> (n)</b>	37 (1)	28 (1)	222 (1)	431 (1)	2,7 (1)	1,2 (1)	0,11 (1)	nd	22 (1)

<sup>1</sup> Official Journal of the European Union, Regulation EU No 1169/2011 – Part B – Reference intake for energy and selected nutrients other than vitamins and minerals (adults).

<sup>2</sup> Valores médios dos diferentes componentes, independentemente da proveniência das amostras de carne.

nd – valores não determinados

### 1.1.3. Vitaminas

A composição vitamínica da carne, tal como a mineral, está muito relacionada com o tipo de alimentação, o ritmo de crescimento dos animais e com a região anatómica considerada (Dalle Zotte, 2004).

A carne e os produtos animais possibilitam a ingestão de várias vitaminas, em especial as B<sub>12</sub>, que não se encontram em alimentos vegetais. A carne de coelho é a mais rica nesta vitamina, com cerca de 8,7-11,9 mg / 100 g de carne fresca, o que representa cerca de 3



vezes mais do que a dose diária recomendada para um homem adulto (Dalle Zotte e Szendro, 2011).

#### 1.1.4. Lípidos

A fração lipídica da carne de coelho é constituída por lípidos estruturais – fosfolípidos e colesterol – e lípidos de reserva – triglicéridos – e representa, no total, cerca de 5 g / 100 g de carne fresca (Dalle Zotte, 2004).

Os fosfolípidos fazem parte das membranas celulares e estão presentes na carne de coelho em quantidades aproximadamente constantes, variando entre 0,5 - 1 g / 100 g de músculo fresco (Combes, 2004). Os níveis de triglicéridos e de colesterol são mais variáveis, em função da zona anatómica considerada. Enquanto para os triglicéridos os valores oscilam entre 0,5 - 3,8 g / 100 g de músculo fresco (Combes, 2004), para o colesterol a média é de 45 mg / 100 g de músculo fresco (Dalle Zotte, 2004). Embora o nível de colesterol plasmático seja independente do teor de colesterol das dietas alimentares (Chizzolini *et al.*, 1999) é de salientar que o coelho é a espécie que apresenta teores de colesterol mais reduzidos, quando comparado com as carnes mais consumidas – 65 mg e 60 mg / 100 g de músculo fresco de suíno e bovino e 81 mg, em média de carcaça, para as aves (Chizzolini *et al.*, 1999).

Os triglicéridos e os fosfolípidos são constituídos por ácidos gordos saturados e insaturados. O equilíbrio entre os componentes dos lípidos e a composição em ácidos gordos é essencial para a determinação do valor nutricional e para as propriedades mais ou menos benéficas que a carne possa ter. Para além disso, influi ainda na formação da maior parte das características organoléticas que os consumidores identificam como positivas. Exemplo disso é a diminuição do sabor das carnes, principalmente de bovino e de suíno, verificada nos últimos anos e que está relacionada com a tentativa de reduzir os teores de gordura das mesmas, com o objetivo de satisfazer a procura dos consumidores por carnes magras.

No quadro 4 pode visualizar-se a composição em ácidos gordos das carnes de coelho, suíno, bovino e aves, bem como a razão entre ácidos gordos polinsaturados n-6 e n-3 que estas carnes apresentam.

**Quadro 4** - Teor de ácidos gordos (em % de ácidos gordos totais) da carne de coelho, suíno, bovino e aves (adaptado de Enser *et al.*, 2000; Combes, 2004 e Alfaia *et al.*, 2006).

	Coelho	Suíno	Bovino	Aves
<b>AGS</b>	39	37	39,5	32
<b>MUFA</b>	28	44,4	42,4	41
18:2 n-6	23,5	14,3	6,3	20,1
18:3 n-3	2,4	0,55	0,91	0,49
20:4 n-6	3,3	3,63	2,36	3,64
20:5 n-3 (EPA)	0,49	0,42 <sup>1</sup>	0,07 <sup>2</sup>	0,17
22:6 n-3 (DHA)	1,11	0,41 <sup>1</sup>	0,03 <sup>2</sup>	0,66
<b>PUFA</b>	33	18,5	9,5	25,1
n - 6 / n - 3	5,9	32,5	9,47	18

<sup>1</sup> Valores retirados de Enser *et al.* (2000), correspondentes à média dos teores obtidos para machos e fêmeas.

<sup>2</sup> Valores retirados de Alfaia *et al.* (2006), correspondentes à % de ácidos gordos do músculo *Longissimus thoracis* de novilhos de produção intensiva, cruzados de Alentejana x Charolesa.

A composição em ácidos gordos da carne de coelho confere-lhe características que a diferem das restantes espécies, especialmente em relação aos ácidos gordos polinsaturados. De facto, quer os suínos, bovinos, aves e também o coelho apresentam valores de ácidos gordos saturados semelhantes entre si, tal como se observa no quadro 4. A principal diferença entre as carnes reside no teor de ácidos gordos polinsaturados, que é bastante mais elevado no coelho, com cerca de 33% em % de ácidos gordos totais, contra 18,5% em suínos, 9,5% em bovinos e 25,1% em aves.

Na composição da carne de coelho é de salientar a presença de n-3, onde se destacam  $\alpha$ -linolénico (18:3 n-3), o eicosapentaenóico EPA (20:5 n-3) e o docosahexanóico DHA (22:6 n-3). A presença acentuada de ácidos gordos polinsaturados n-3 permite que haja uma diminuição do rácio n-6 / n-3 na carne de coelho, comparativamente com as restantes espécies. Segundo Martin (2001), a dieta humana deverá ter um rácio n-6 / n-3 de 5 e, como se observa no quadro 4, o coelho é o que mais se aproxima desse valor, com 5,9. Pla *et al.*

(2007) definem ainda, como critério de avaliação da qualidade nutricional da carne, que o rácio ácidos gordos polinsaturados / saturados deve ser superior a 0,45.

No quadro 5, pode observar-se com mais pormenor o perfil de ácidos gordos da carne de coelho.

**Quadro 1** – Perfil de ácidos gordos, em média, da carcaça de coelho fresca e do músculo *Longissimus lumborum* (cv - coeficiente de variação; n - número de valores retirados da bibliografia). (Combes, 2004).

Ácidos gordos (% de AG totais)	Carcaça			Músculo <i>L. lumborum</i>		
	Média	CV (%)	n	Média	CV (%)	n
14:0	<b>2,81</b>	34	45	<b>2,49</b>	40	27
15:0	<b>0,56</b>	24	17	<b>0,57</b>	23	9
16:0	<b>27,86</b>	16	48	<b>26,18</b>	15	30
17:0	<b>0,59</b>	28	19	<b>0,56</b>	35	9
18:0	<b>7,49</b>	19	48	<b>7,32</b>	17	30
20:0	<b>0,26</b>	82	18	<b>0,31</b>	81	10
22:0	<b>0,10</b>	55	10	<b>0,11</b>	42	9
<b>AGS totais %</b>	<b>39</b>	14	45	<b>38,06</b>	12	30
14:1 <i>cis</i> -9	<b>0,36</b>	74	17	<b>0,26</b>	65	8
15:1	<b>0,14</b>	103	8	<b>0,10</b>	-	1
16:1 <i>cis</i> -9	<b>3,75</b>	56	48	<b>2,90</b>	48	30
17:1	<b>0,29</b>	52	14	<b>0,17</b>	88	4
18:1 <i>cis</i> -9	<b>24,22</b>	14	48	<b>23,08</b>	12	30
20:1 <i>cis</i> -9	<b>0,27</b>	74	29	<b>0,29</b>	80	20
<b>MUFA %</b>	<b>27,97</b>	17	40	<b>26,71</b>	12	27
18:2 n-6	<b>23,55</b>	20	57	<b>24,83</b>	15	37
18:3 n-3	<b>2,41</b>	58	60	<b>2,22</b>	63	40
20:2	<b>0,48</b>	105	21	<b>0,63</b>	100	11
20:3 n-6	<b>0,50</b>	122	20	<b>0,72</b>	100	11
20:4 n-6	<b>3,31</b>	59	53	<b>4,11</b>	37	36

**Quadro 5** (continuação) – Perfil de ácidos gordos, em média, da carcaça de coelho fresca e do músculo *Longissimus lumborum* (cv - coeficiente de variação; n - número de valores retirados da bibliografia). (Combes, 2004).

Ácidos gordos (% de AG totais)	Carcaça			Músculo <i>L. lumborum</i>		
	Média	CV (%)	n	Média	CV (%)	n
20:5 n-3	<b>0,49</b>	112	33	<b>0,57</b>	98	28
21:5	<b>0,49</b>	68	17	<b>0,49</b>	68	17
22:5 n-3	<b>0,77</b>	74	29	<b>0,79</b>	73	28
22:6 n-3	<b>1,11</b>	125	30	<b>1,17</b>	121	28
<b>PUFA (%)</b>	<b>33,75</b>	21	45	<b>36,48</b>	17	34
<b>Total PUFA n - 3 (%)</b>	<b>5,77</b>	46	26	<b>5,99</b>	46	22
<b>Rácio n-6 / n-3</b>	<b>5,86</b>	47	24	<b>5,47</b>	45	20

O aumento da ingestão de ácidos gordos n-3 face aos ácidos gordos n-6 está relacionado com a prevenção de doenças cardiovasculares, diminuindo a sua incidência e a mortalidade. Segundo estudos de Simouopoulos (2008), o excesso de ácidos gordos n-6 e, consequentemente, um rácio elevado de n-6 / n-3, promove o aparecimento de várias doenças, como as cardiovasculares, cancro, doenças inflamatórias e autoimunes. Por outro lado, a mesma autora sugere ainda que a diminuição do rácio para 4, possibilita uma redução de 70% na mortalidade causada por doenças coronárias.

O interesse na diminuição deste rácio passa ainda pela competição que os ácidos linoleico e  $\alpha$ -linolénico têm entre si pelas enzimas responsáveis pelo seu metabolismo, para dar origem aos ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa – araquidónico, EPA e DHA.

Os ácidos EPA e DHA têm uma elevada importância na saúde humana. No caso do DHA, existe mesmo uma correlação negativa entre o seu consumo e o desenvolvimento de algumas doenças, como por exemplo, trombozes, arritmias cardíacas, enfartes, hipertensão e alguns tipos de cancro. É também essencial para o desenvolvimento e manutenção da atividade cerebral, desde a idade infantil até à adulta (Horrocks e Yeo, 1999).

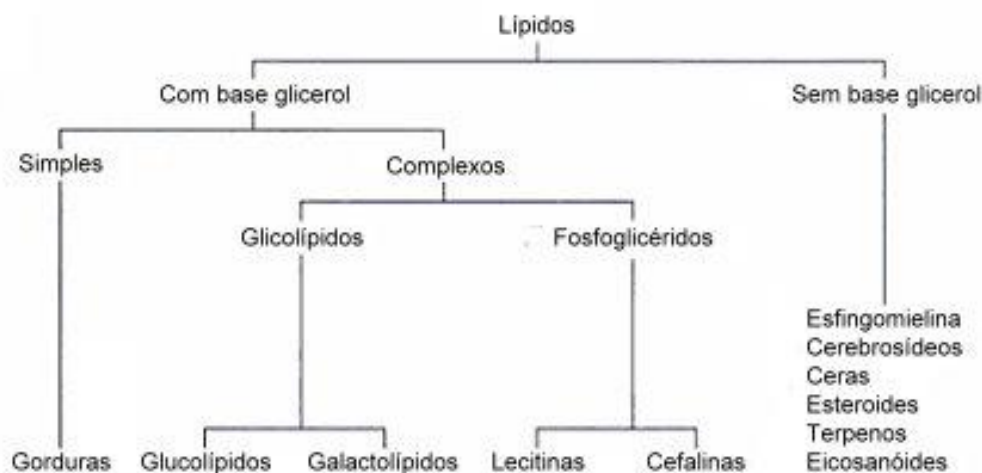
A concentração de DHA é bastante reduzida na carne de bovino, tal como apresentado no quadro 4. Nos suínos e aves, surge com valores de 0,41 e 0,66% em % de ácidos gordos totais, respetivamente, enquanto o coelho apresenta o valor mais elevado com 1,11%.

Apesar de ficar aquém dos valores presentes nos peixes gordos (10-19% do total de ácidos gordos), a carne de coelho é, no âmbito dos valores apresentados no quadro 4, a que fornece DHA em concentrações mais elevadas, tornando-se por isso interessante a manipulação destes valores através da dieta.

## 2. Gorduras na alimentação dos coelhos

### 2.1. Classificação e tipos de lípidos

Os lípidos são estruturas complexas (figura 2) formadas por carbono, hidrogénio e oxigénio e caracterizados pela solubilidade que têm em solventes apolares (Xiccato, 2010).



**Figura 2** – Classificação de lípidos (adaptado de McDonald *et al.*, 2002).

Os triglicéridos, classificados como lípidos de reserva, são a forma mais comum de acumulação de energia nos tecidos animais. São constituídos por uma molécula de glicerol e três ácidos gordos. Os ácidos gordos são componentes importantes que influem sobre as propriedades fisiológicas, químicas e nutricionais dos triglicéridos.

As principais características que diferenciam os ácidos gordos são o número de átomos de carbono (C) e o número de duplas ligações que possuem (Xiccato, 2010). O número de carbonos varia em função da síntese e oxidação dos ácidos gordos, que permite adicionar ou remover pares de átomos, respetivamente. As cadeias de átomos podem ser classificadas de pequenas, quando formadas por dois a oito carbonos (C2-8); médias, quando constituídas por 10-16 carbonos ou longas quanto têm mais de 18 átomos de carbono. O número de duplas ligações entre átomos de carbono permite distinguir os ácidos gordos saturados, que não possuem duplas ligações, os ácidos gordos monoinsaturados, que têm uma dupla ligação e os ácidos gordos polinsaturados, que possuem duas ou mais ligações.

**Quadro 6** – Estrutura química dos ácidos gordos com maior representatividade nos óleos e gorduras (Xiccato, 2010).

Ácido gordo	Designação	Estrutura química
Mirístico	14:0	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{12}-\text{COOH}$
Palmítico	16:0	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{COOH}$
Palmitoleico	16:1, n-7	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$
Esteárico	18:0	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{16}-\text{COOH}$
Oleico	18:1, n-9	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$
Linoleico	18:2, n-6	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$
Linolénico	18:3, n-3	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$

A posição das duplas ligações é determinante para caracterizar as funções dos ácidos gordos polinsaturados nos organismos, nomeadamente as suas propriedades como precursores de alguns componentes essenciais, como, por exemplo, os eicosanóides.

Os animais, incluindo o Homem, são capazes de alongar a cadeia de ácidos gordos, isto é, transformar cadeias longas com 18 átomos de carbono, em cadeias muito longas com 22 átomos (Xiccato, 2010). No entanto, não são capazes de inserir duplas ligações entre os átomos de carbono na posição 1 (n-1) e na posição 9 (n-9), a contar a partir do carbono ómega (Maertens, 1998). Torna-se assim necessário que seja a dieta a fornecer aos

animais os ácidos gordos essenciais n-3 (1ª dupla ligação na posição 3) e n-6 (1ª dupla ligação na posição 6).

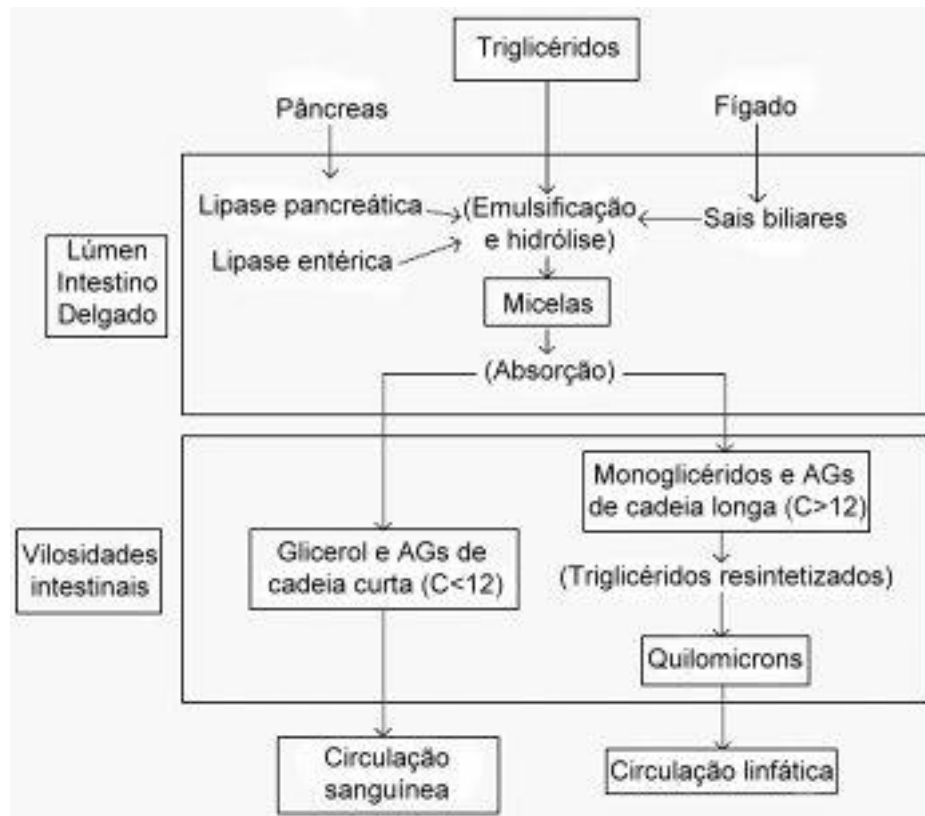
No grupo dos ácidos gordos essenciais encontram-se o ácido linoleico 18:2 n-6 e o ácido linolénico 18:3 n-3. A presença de ácido linoleico é essencial para a síntese de ácido araquidónico 20:4 n-6, que serve de precursor a algumas hormonas com funções reprodutivas e homeostáticas, como por exemplo, prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos. Por outro lado, o ácido linolénico serve de base à síntese dos ácidos eicosapentaenóico 20:5 n-3 e docosahexanóico 22:6 n-3, precursores de componentes essenciais para o funcionamento do sistema cardiovascular, ocular, imunitário e cerebral (Xiccato, 2010).

## **2.2. Digestibilidade e absorção das gorduras**

O processo de digestão das gorduras (figura 3) nos coelhos é semelhante ao que ocorre nos animais não ruminantes (Xiccato, 2010). Os triglicéridos são emulsificados no duodeno, através de sais biliares, segregados pelo fígado. As enzimas, especialmente as lipases, segregadas pelo pâncreas, hidrolisam os triglicéridos, permitindo a separação dos seus componentes - glicerol, ácidos gordos livres e monoglicéridos. Estes componentes permanecem agregados aos sais biliares, formando micelas que transportam as gorduras até às vilosidades, onde são absorvidas nos enterócitos. (Maertens, 1998; Xiccato, 2010).

Após absorção, o glicerol e os ácidos gordos de cadeia curta passam para a corrente sanguínea, onde circulam como ácidos gordos não esterificados. Por sua vez, os monoglicéridos e os ácidos gordos de cadeia média e longa são transformados em novos triglicéridos. Os ácidos gordos esterificados nos triglicéridos são transportados na corrente linfática pelos quilomicrons e podem ser incorporados diretamente nos tecidos adiposos ou, no caso de animais em lactação, ser transferidos para o leite (Xiccato, 2010).

Desta forma, é possível alterar a composição em ácidos gordos dos tecidos e músculos dos animais, através da manipulação da fração lipídica da dieta (Dalle Zotte, 2002; Xiccato, 2010).



**Figura 3** - Digestão e absorção de triglicéridos em monogástricos (adaptado de Xiccato, 2010).

Desta forma, é possível alterar a composição em ácidos gordos dos tecidos e músculos dos animais, através da manipulação da fração lipídica da dieta (Dalle Zotte, 2002; Xiccato, 2010).

De acordo com Xiccato (2010) e Blas e Mateos (2010), não existem necessidades específicas para o teor de gordura a incluir nas dietas para coelhos. É necessário garantir a presença de ácidos gordos essenciais, nomeadamente os n-3 e n-6, cujas quantidades são facilmente suprimidas pelos alimentos comuns nas dietas – luzerna e bagaço de girassol, por exemplo. Estes alimentos possuem entre 2-2,5% de lípidos, que conferem os ácidos gordos polinsaturados suficientes para satisfazer as necessidades dos animais (Maertens, 1998).

Segundo Maertens *et al.* (1986), nas dietas sem adição de gordura, a digestibilidade aparente desta fração é baixa, entre os 45-65%, pois os lípidos são maioritariamente estruturais. Neste caso, a gordura está ligada às estruturas celulares, dificultando a sua digestão. Ao adicionar gordura às dietas, a digestibilidade aparente tende a aumentar devido à maior disponibilidade dos lípidos sob a forma de triglicéridos (estado “puro”), onde se incluem não só a gordura animal, mas também as sementes de oleaginosas (Xiccato, 2010).



De acordo ainda com Xiccato (2010), que se baseia em estudos de Parigi Bini *et al.* (1974) e Maertens *et al.* (1986), a digestibilidade das gorduras adicionadas oscila entre os 64 – 88 %. A digestibilidade depende também do tipo de gordura adicionada, do seu nível de insaturação e da quantidade de lípidos estruturais (Fernández-Camona *et al.*, 2000). As gorduras insaturadas são emulsificadas mais facilmente no trato digestivo e, consequentemente, têm uma maior absorção (Dolz, 1996) do que as gorduras saturadas, tal como comprovado pela compilação de estudos efetuada por Fernández-Carmona *et al.* (2000) que demonstraram que a digestibilidade mais elevada pertence aos alimentos ricos em ácidos gordos insaturados – soja e girassol – com valores entre os 77-87%. A banha de porco e as misturas de gordura animal apresentaram coeficientes de digestibilidade entre os 71-75%, enquanto o sebo bovino não ultrapassou os 52-64%.

No entanto, a inclusão de gordura deverá ser limitada pois, como referido na revisão de Xiccato (1999), níveis demasiado elevados (superiores a 9%) podem afetar negativamente a eficiência digestiva e a atividade da microflora cecal, comprometendo as performances dos animais.

### **2.2.1. Efeito da gordura sobre a digestibilidade da dieta**

A adição de gordura às dietas para coelhos tem 3 objetivos fundamentais: 1) aumentar a densidade energética, sem colocar em causa o teor de fibra necessário ao bom funcionamento do trato digestivo do coelho; 2) aumentar a eficiência de utilização da energia metabolizável e 3) promover uma melhor utilização dos nutrientes da dieta (Falcão e Cunha *et al.*, 2004; Casado *et al.*, 2010).

O aumento do teor de gordura permite aumentar a densidade energética das dietas, levando a uma diminuição da ingestão da matéria seca (Falcão e Cunha *et al.*, 2004; Pla, 2004) e a uma maior eficiência alimentar (Fernández e Fraga, 1996; Xiccato, 1999). Isto é possível devido ao mecanismo de controlo quimiostático do apetite, através do qual o coelho reduz a ingestão de alimento, quando a concentração de energia digestível é superior a 9,3 MJ / kg (Maertens, 1998).

A presença de gordura afeta, também, a velocidade do trânsito digestivo, tornando-o mais lento (Falcão e Cunha *et al.*, 2004), o que possibilita que quer as enzimas endógenas quer da microflora cecal, tenham um maior tempo de contacto com os alimentos, melhorando a digestibilidade da dieta em geral (Maertens, 1998).

Os parâmetros que medem a atividade fermentativa cecal, como a atividade fibrolítica e os ácidos gordos voláteis, podem, também, ser afetados pela presença de gordura adicionada. Falcão e Cunha *et al.* (2004) observaram uma redução na atividade pectinolítica e celulolítica em animais alimentados com dietas com elevado teor de gordura. No caso dos ácidos gordos voláteis, produzidos pela microflora cecal, não existe um efeito direto resultante da gordura adicionada à dieta – a gordura é digerida no intestino delgado, não interferido com a atividade bacteriana, que decorre no ceco (Fernández *et al.*, 1994). No entanto, Chen e Li (2008) referem que pode ocorrer alteração da proporção de AGV produzidos, em função do tipo de gordura adicionada à dieta. As proporções médias de AGV no ceco são de 60-70% de acético, 15-20% de butírico e 10-15% de propiónico (Davies e Davies, 2003).

### **2.2.2. Efeito da gordura sobre a qualidade da carcaça**

Em Portugal, o abate dos coelhos acontece, comumente, entre as 9 – 10 semanas de idade, altura em que os tecidos de maturação tardia, como por exemplo o adiposo, ainda não alcançaram o máximo do seu desenvolvimento (Carrilho *et al.*, 2009). Por outro lado, a pele, o aparelho digestivo e os ossos são os que se apresentam mais desenvolvidos (Pla, 2004), mas são os que menos contribuem para o rendimento da carcaça.

A inclusão de gordura, em níveis baixos / moderados – 2 a 6% (Hernández e Dalle Zotte, 2010), tende a melhorar o rendimento em carcaça e aumentar o teor de gordura dissecável. O mesmo foi observado por Fernández e Fraga (1996) que concluíram que a adição de lípidos leva a uma diminuição do rácio proteína / energia, contribuindo para uma maior quantidade de gordura nos depósitos peri-renais e musculares.

Ao adicionar valores mais elevados de gordura, superiores a 9%, pode ocorrer um excesso de adiposidade (Dalle Zotte, 2002), prejudicando a qualidade da carcaça, para além de, como foi anteriormente referido, poder colocar em causa o desempenho digestivo dos animais. No entanto, para alterar a composição da gordura intramuscular, são necessárias quantidades mais elevadas de gordura nas dietas, podendo, consoante a fonte dos lípidos, melhorar as características sensoriais, como a suculência e a tenrura (Hernández e Dalle Zotte, 2010).

A inclusão de diferentes tipos de gordura, animal ou vegetal, promove diferenças na qualidade da carne de coelho, quer na composição dos ácidos gordos, quer no sabor que conferem à carne (Hernández e Dalle Zotte, 2010). Por exemplo, testes efetuados com

painel de provadores permitiram concluir que a carne proveniente de coelhos alimentados com gordura animal têm um acentuado flavour a “fígado”, enquanto a gordura vegetal, por seu lado, proporciona flavour a “erva” (Hernández e Dalle Zotte, 2010). Também foi identificado, de acordo com Pla (2004) um sabor desagradável na carne, quando a composição das dietas foi rica em óleo de linho e de soja, devido à acentuada presença de ácidos gordos polinsaturados, especialmente linoleico, que oxidam com facilidade. O mesmo autor afirma ainda que os diferentes tipos de gordura não provocam diferenças nas características de textura da carne.

### **3. Manipulação da composição lipídica através da dieta**

Adicionar gordura às dietas para animais tem, hoje em dia, objetivos diferentes dos que tinha quando se iniciaram os estudos acerca da formulação ótima para cada espécie animal. Atualmente, a gordura desempenha um papel fundamental no enriquecimento do valor nutricional das carnes, através da promoção de alterações favoráveis no perfil de ácidos gordos dos tecidos musculares (Forrester-Anderson *et al.*, 2006).

Tal como referido no ponto 2.2. – *Digestibilidade e Absorção das Gorduras*, os ácidos gordos provenientes das dietas são diretamente incorporados nos tecidos adiposos, criando a possibilidade da fração lipídica, quer intramuscular quer subcutânea, ser fortemente influenciada pela quantidade e qualidade dos lípidos presentes na dieta (Oliver *et al.*, 1997). No entanto, para que tal seja possível, é necessário conhecer quais as gorduras que se adicionam às dietas, a sua composição, a quantidade necessária para provocar alterações e quais as consequências da sua incorporação na qualidade e conservação da carne. Por exemplo, a escolha entre gorduras vegetais ou animais leva a que se obtenham carnes com diferentes qualidades finais, especialmente em relação à composição dos ácidos gordos e do flavour (Hernández e Gondret, 2006).

#### **3.1. A semente de linho como fonte de gordura insaturada**

O linho (*Linum usitatissimum* L.) é historicamente conhecido desde a Idade da Pedra (3000 a.C.), onde era produzido com o objetivo de obter fibra têxtil. Com a evolução da sociedade,

surgiram novas aplicações, principalmente a nível industrial, com destaque para a extração do óleo da semente e para a sua aplicação em diversas indústrias, como tintas, vernizes, sabões, impermeabilizantes, entre outras. Atualmente, os maiores produtores mundiais de linho para extração de óleo são a Índia, Canadá, China, Estados Unidos da América, Argentina, Alemanha e Reino Unido (Cunha, 2011).

A semente de linho pode conter cerca de 20% de proteína, 30% de fibra e 40% de gordura (Bayrak *et al.*, 2010). Desta última, a maior parte é constituída por ácidos gordos polinsaturados e entre 51-59% do total de ácidos gordos é composto por ácido  $\alpha$ -linolénico, 18:3 n-3 (Bean e Leeson, 2002). O ácido  $\alpha$ -linolénico é um ácido gordo essencial amplamente utilizado como suplemento dietético na alimentação humana devido às suas propriedades benéficas para a saúde. Tal como referido no 1.1.4. – *Composição Química da Carne de Coelho – Lípidos* – o ácido  $\alpha$ -linolénico, para além de ser um precursor dos ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), reconhecidos pelo seu papel protetor contra várias doenças, promove ainda o aumento da absorção destes ácidos gordos, denominados polinsaturados de cadeia longa.

A manipulação dos produtos animais através do enriquecimento das suas dietas com ácidos gordos polinsaturados n-3 tem sido por isso objeto de estudo, de forma a melhorar as características da gordura da carne, tornando-a mais saudável para os consumidores. O aumento da concentração de ácidos gordos polinsaturados, especialmente da família dos n-3, permite que haja uma diminuição na concentração dos principais ácidos gordos saturados com efeitos negativos na saúde humana, principalmente o ácido palmítico 16:0 (Xiccato, 1999; Bessa *et al.*, 2007) e ainda uma redução do rácio n-6 / n-3 da carne (Petracci, 2009).

Pelas características da sua composição, o linho é um dos alimentos eleitos para melhorar as características nutricionais das dietas, em detrimento da utilização de óleos e farinhas de peixe (Bianchi *et al.*, 2006; Maertens *et al.*, 2008; Bianchi *et al.*, 2009), sendo diversos os estudos que evidenciam esta hipótese. Williams (2000) refere a possibilidade de aumentar o valor de ácido  $\alpha$ -linolénico e os níveis de EPA nos tecidos de animais, quer ruminantes quer não ruminantes, através da inclusão de linho nas dietas. Bessa *et al.* (2007) demonstraram também que a incorporação de semente de linho na dieta de novilhos permite melhorar a qualidade dietética da gordura da carne e ainda promover uma maior aceitabilidade pelos consumidores. Os mesmos autores referem ainda que a suplementação com óleo de linho permite uma redução dos ácidos gordos saturados, diminuindo assim a presença dos principais componentes com efeitos hipercolesterémicos.

No caso dos coelhos, Dal Bosco *et al.* (2004) referem que a inclusão de 8% de semente de linho nas dietas aumenta a concentração de ácido  $\alpha$ -linolénico na carne e diminui o rácio n-6 / n-3, comparando com o grupo de controlo. Para além disso, são vários os trabalhos que

referem ser possível estabelecer uma correlação positiva entre a quantidade de linho incluída na dieta e o teor de ácido  $\alpha$ -linolénico presente na carne (Colin *et al.*, 2007; Bianchi *et al.*, 2009).

#### 4. Oxidação lipídica

A oxidação lipídica é um dos principais mecanismos que causam diminuição da qualidade da carne, levando à produção de radicais livres, prejudiciais à saúde humana, perda das características típicas de flavour, cor e textura, diminuição do valor nutricional e produção de compostos tóxicos (Love e Pearson, 1971; Lopez-Bote *et al.*, 1998; Corino *et al.*, 1999; Wood *et al.*, 2003; Santé-Lhoutellier *et al.*, 2008). Em suma, é um processo que leva à diminuição do “*shelf-life*” das carnes (Dal Bosco *et al.*, 2004).

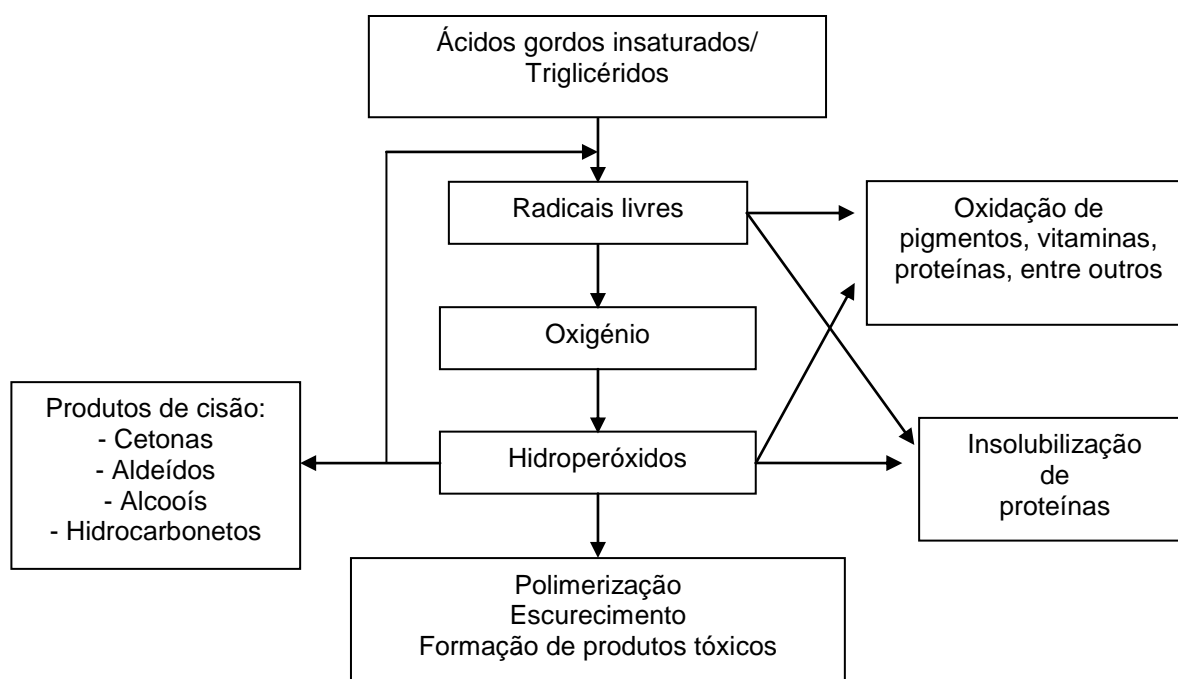
Tal como Gandemer (2002) afirmou “os lípidos desempenham um papel importante em vários aspetos da qualidade dos produtos cárneos, incluindo no valor nutricional e nas propriedades sensoriais, pois são solventes e precursores de compostos aromáticos”. Assim, a deterioração da fração lipídica acaba por levar ao aparecimento de alterações como o ranço, desagradáveis para o consumidor (Dalle Zotte, 2002).

A oxidação lipídica depende de diversos fatores, que podem potencializar a reação (Zsédely *et al.*, 2008). Entre eles, destacam-se 1) a composição lipídica - quanto maior o teor de gordura e a insaturação, maior a oxidação; 2) a presença de oxigénio e água; 3) a presença e quantidade de enzimas - oxidases, lípases e proteases, entre outras; 4) a temperatura e a duração do armazenamento; 5) os antioxidantes - vitaminas e minerais e 6) os metais catalisadores, como por exemplo, o ferro (Silva *et al.*, 1999; Popova *et al.*, 2009). Em suma, a estabilidade oxidativa da carne vai depender do equilíbrio estabelecido entre a quantidade de pró-oxidantes e antioxidantes presentes nos tecidos (Mercier *et al.*, 2004).

A reação de oxidação é caracterizada por 3 fases – iniciação, propagação e terminação. Na fase inicial, um átomo de oxigénio reage com a cadeia de ácidos gordos polinsaturados, removendo o átomo de hidrogénio adjacente à dupla ligação, dando origem a um radical livre. Durante a fase de propagação, os radicais livres reagem com o oxigénio, formando peróxidos que, por sua vez, removem novamente um hidrogénio da cadeia de ácidos gordos. Como consequência, formam-se hidroperóxidos e novos radicais livres. Esta reação pode prolongar-se até à extinção dos ácidos gordos e os produtos finais diferem consoante as reações secundárias dos hidroperóxidos (Gray, 1978; Ladikos e Lougovois, 1990).

Ao longo deste processo, é possível medir a extensão da oxidação no alimento através da quantificação dos peróxidos. No entanto, como estes são altamente instáveis e reativos (Batifoulrier *et al.*, 2002), a sua identificação apenas é possível em estados iniciais de oxidação.

Os produtos secundários, que se vão formando na fase terminal, derivam dos radicais livres e da decomposição dos hidroperóxidos, nomeadamente, álcoois, cetonas, aldeídos, ésteres e outros hidrocarbonetos (Ladikos e Lougovois, 1990).



**Figura 4** - Esquema geral da oxidação lipídica (retirado de Silva *et al.*, 1999).

Alguns dos produtos finais são mensuráveis e os seus efeitos estão estudados. Por exemplo, um dos aldeídos mais usado para quantificar a oxidação lipídica, através de métodos espectrofotométricos, é o malonaldeído (Tokur *et al.*, 2006; Miyagusku *et al.*, 2007; Eneji *et al.*, 2011). O MDA tem capacidade para reagir com diversas moléculas do organismo causando-lhes modificações, que podem terminar em lesões genéticas e mutações (Fang *et al.*, 1996). O MDA está também indicado para a mensuração do estado de oxidação do organismo humano, pois está relacionado com o nível de alteração aterosclerótica (Ferrari, 1998).

A ocorrência da oxidação leva à alteração das características da carne, já que a maior parte dos compostos formados têm propriedades voláteis (Ladikos e Lougovois, 1990) – a sua presença provoca alterações sensoriais nos alimentos ao nível dos odores. O armazenamento pode também ser afetado – em fresco, a cor da carne é alterada, passando de vermelho-brilhante a castanho-acinzentado, devido à transformação da oximioglobina em metamioglobina; em congelado, a carne vai adquirindo sabor a ranço.

A qualidade dos produtos cárneos transformados poderá, igualmente, ficar comprometida, pois o processamento – preparação, desossa, picagem – expõe uma maior superfície de carne ao oxigénio, facilitando o desenvolvimento da oxidação. Para além disso, ocorrem interações entre os produtos da oxidação lipídica e as proteínas, facto que pode alterar as características de solubilidade, emulsificação, capacidade de retenção de água e textura da carne (Ladikos e Lougovois, 1990).

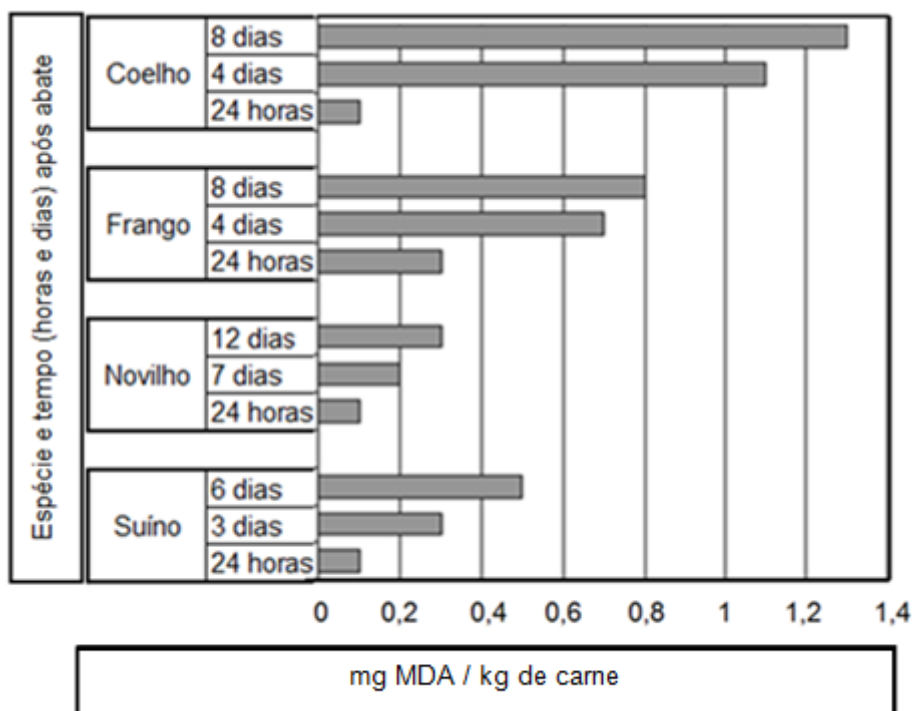
O colesterol, a par dos ácidos gordos, é igualmente suscetível à oxidação, através de mecanismos enzimáticos e não enzimáticos (Niki *et al.*, 2005). Os produtos desta reação designam-se, de forma geral, óxidos de colesterol e funcionam como bio marcadores para o diagnóstico do stresse oxidativo em humanos (Niki *et al.*, 2005). Os óxidos podem ser absorvidos na mucosa intestinal e dar origem a várias patogénese, devido às suas características ateroscleróticas, mutagénicas e cancerígenas (Ferrari, 1998).

A composição em ácidos gordos da carne de coelho é um dos fatores que a tornam suscetível à rancificação, por ter uma maior concentração de ácidos gordos polinsaturados, facilmente oxidáveis, do que as restantes espécies animais (Eneji *et al.*, 2011). De facto, as duplas ligações dos ácidos gordos oxidam com elevada facilidade, levando à formação de hidroperóxidos. Estes, por sua vez, são divididos em componentes mais pequenos que conferem à carne o típico odor a ranço e que facilitam a ocorrência de fenómenos como a descoloração, diminuição da capacidade de retenção de água e odores desagradáveis, culminando numa diminuição do valor nutricional e da qualidade da carne (Hernández e Dalle Zotte, 2010). O processamento e o tempo de armazenamento da carne são igualmente afetados, pois quanto maior a quantidade de ácidos gordos polinsaturados, mais rápido decorre o processo de oxidação (Dalle Zotte, 2002).

Em suma, quanto maior a insaturação, mais condicionados ficam o valor nutricional e a qualidade da carne e dos produtos derivados – maior a extensão da oxidação, formação de metabolitos prejudiciais, desenvolvimento de características indesejáveis e diminuição do tempo de vida útil dos produtos.

Na figura 5 podem observar-se os resultados da medição da oxidação através do índice de substâncias reactivas ao ácido tiobarbitúrico. O TBARS é um método que induz a oxidação na carne e quantifica-a através de uma reação de cor entre o ácido tiobarbitúrico e um dos

produtos dessa reação, nomeadamente o malonaldeído. Quanto maior a extensão da oxidação, maior a quantidade de mg MDA / kg de carne. Neste exemplo, os ensaios decorreram com carne refrigerada de coelho, frango, bovino e suíno. Através da observação da figura, a carne de coelho é a que apresenta teores de MDA superiores, sendo por isso mais suscetível.



**Figura 5** - Comparação dos valores de oxidação, medida através do índice de TBARS (mg MDA / kg de carne) da carne de coelho, frango, bovino e suíno (retirado de Combes e Dalle Zotte, 2005).

#### 4.1. Antioxidantes

Existem diversas medidas de carácter preventivo, cujo objetivo é reduzir a extensão do fenómeno de oxidação e, consequentemente preservar o teor de n-3 da carne. O armazenamento a baixas temperaturas, a utilização de embalagens estanques e opacas à radiação UV e o enriquecimento das dietas, ricas em ácidos gordos polinsaturados, com compostos antioxidantes (Silva *et al.*, 1999), possibilitam a manutenção das características de qualidade da carne durante mais tempo. Desta forma minimiza-se igualmente o risco de



ingestão de produtos que tenham sofrido um processo de oxidação já que, como referido no ponto anterior, os compostos que se formam acarretam consequências negativas para a saúde humana.

Os animais não conseguem sintetizar antioxidantes em elevadas quantidades, pelo que devem ser incluídos nas dietas, como forma de suplementação (Mercier *et al.*, 2004).

O interesse na utilização de antioxidantes tem vindo a aumentar, com o objetivo de diminuir a velocidade da reação de oxidação lipídica e retardar a perda de valor nutricional. No entanto, o mecanismo que quebra a reação não é simples e não está totalmente esclarecido (Silva *et al.*, 1998).

São vários os alimentos e aditivos que têm sido alvo de investigação, para avaliar a sua capacidade antioxidante. O aumento da concentração de vitamina E na carne, através da suplementação das dietas com  $\alpha$ -tocoferol acetato, é um dos casos de utilização de antioxidantes mais descritos na bibliografia (Lopez-Bote *et al.*, 1997; Castellini *et al.*, 1998; Corino *et al.*, 1999; Dal Bosco *et al.*, 2004; Lo Fiego *et al.*, 2004; Corino *et al.*, 2007). A vitamina E não só é essencial para o crescimento, reprodução e sistema imunitário, como também possui atividade antioxidante, diminuindo a velocidade da reação e preservando a cor da carne por mais tempo (Dalle Zotte e Szendrő, 2011). É possível, desta forma, preservar a carne por um período mais longo, evitando a deterioração quer da fração lipídica quer do colesterol.

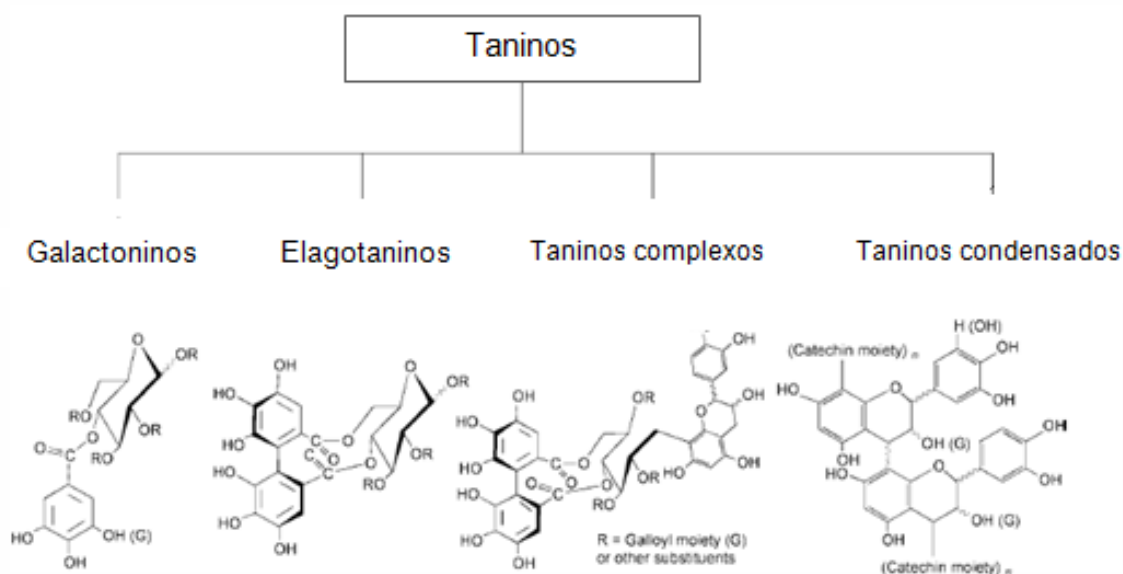
A importância dos antioxidantes foi confirmada por estudos de Mercier *et al.* (2004), que compararam, através de TBARS, a oxidação da carne de animais alimentados em pastoreio com animais alimentados com concentrado – seria de esperar que a pastagem, ao ser mais rica em ácidos gordos polinsaturados, levasse a uma maior oxidação. No entanto, este pressuposto não aconteceu, já que a pastagem é, também, muito mais rica em antioxidantes, conferindo à carne um maior teor de vitamina E, para além de carotenoides e flavonoides.

Para além do enriquecimento das dietas com vitaminas, existem alimentos que contêm diversos fitoquímicos – flavonoides, taninos e compostos fenólicos – e que podem, de uma forma natural, fornecer a quantidade de antioxidantes necessários e favorecer a atividade anti-inflamatória e anti-cancerígena dos organismos (Dalle Zotte e Szendro, 2011). Estudos de Lopez-Bote *et al.* (1998) permitiram confirmar que os compostos fenólicos possuem propriedades antioxidantes, ao demonstrar que a utilização de aveia, em dietas para coelhos, diminuiu os valores de TBARS, quando comparado com uma dieta controlo.

Na revisão de Hernández e Dalle Zotte (2010) é ainda possível observar a utilização de vários alimentos, como potenciais antioxidantes, e os resultados da sua inclusão nas dietas.

Entre os mais importantes destacam-se a aveia, o azeite, os orégãos e a chia (*Salvia hispanica*), que possuem diversos polifenóis com capacidade antioxidante.

Os taninos são um dos grupos que fazem parte dos polifenóis e podem ser definidos de acordo com as suas características estruturais. Existem assim, os taninos hidrolisáveis, onde se incluem os galactoninos e elagotaninos, os taninos complexos e os condensados, nomeadamente a proantocianidina (Khanbabaee e Ree, 2001).



**Figura 6** - Classificação e definição de taninos (retirado de Khanbabaee e Ree, 2001).

Para além das propriedades antioxidantes, com interesse na prevenção da degradação oxidativa das gorduras (Lopez-Bote *et al.*, 1998), os taninos têm outras propriedades benéficas, entre elas a diminuição da degradação da proteína no rúmen e o aumento do fluxo desta até ao intestino delgado (Priolo *et al.*, 2000). Para além disso, existem algumas evidências, quer em ruminantes, quer em coelhos, de que os taninos têm potencial na prevenção de distúrbios intestinais (Priolo *et al.*, 2000; Maertens e Struklec, 2006).

No entanto, uma concentração de taninos demasiado elevada na dieta pode prejudicar a performance dos animais (Avallone *et al.*, 1997). Estes compostos contribuem para o sabor amargo e para a adstringência dos alimentos. Além disso, os taninos podem interferir no

processo digestivo, reagindo com algumas proteínas e inibindo a atuação das proteases, podendo, desta forma, provocar uma diminuição da digestibilidade da fração proteica das dietas.

#### **4.1.1. A alfarroba como antioxidante**

A alfarroba é uma das culturas características da zona mediterrânica, com maior expressão em Espanha, Portugal, Itália, Grécia, Marrocos e Turquia. Este conjunto representa cerca de 92% produção mundial (Anuário Vegetal 2006).

Em Portugal, a maior zona de produção é no Algarve, onde a alfarrobeira é um dos principais componentes da vegetação, com importância económica e ambiental e onde se tem verificado um aumento da produção.

O fruto pode ser dividido em duas partes principais – a polpa e as sementes. As sementes, com cerca de 10% do peso do fruto, são compostas principalmente por galactoninos (Kumazawa *et al.*, 2002) e são utilizadas em diversas indústrias como a alimentar, farmacêutica, cosmética e têxtil. Por sua vez, a polpa, que representa cerca de 90% do fruto, é rica em açúcares solúveis, com cerca de 40-50%, e pobre em proteína e gordura, com 3-4% e 0,4-0,8%, respetivamente (Kumazawa *et al.*, 2002). A polpa contém ainda entre 16-20% de taninos (Makris e Kefalas, 2004) dos quais a maior parte são condensados. A principal utilização da polpa é a incorporação nas rações para animais e alguma quantidade é também usada para o fabrico de substitutos de chocolate na alimentação humana.

Os compostos fenólicos fazem parte da fração de fibra dietética que, por si só, tem vários efeitos fisiológicos, entre eles, o melhoramento da eficiência digestiva, o controlo dos níveis de colesterol e glucose sanguíneos e a proteção contra alguns tipos de cancro, para além da atividade antioxidante, anti-mutagénica e anti-cancerígena (Owen *et al.*, 2003). Estas propriedades são confirmadas por estudos de Owen *et al.* (2003) que concluíram que “os polifenóis são potentes captadores de espécies reativas de oxigénio, que para além da prevenção do cancro, permitem ainda reduzir a incidência de doenças coronárias, através da supressão da oxidação das lipoproteínas de baixa densidade”.

Desta forma, é possível afirmar que a alfarroba possui algum potencial antioxidante, devido à sua composição rica em taninos. Num estudo realizado por Makris e Kefalas (2004), com vista a aferir a capacidade dos polifenóis da alfarroba como antioxidantes, foi concluído que são os taninos condensados, principalmente as proantocianidinas, que exibem uma maior

atividade anti radicais livres. O mesmo estudo permitiu ainda concluir que a polpa de alfarroba representa um valor acrescentado ao ser utilizada na alimentação animal.

Würsch (1979) e Zunft *et al.* (2003) destacam ainda a capacidade que a fração rica em fibra dietética da alfarroba tem na redução do colesterol. O mecanismo de atuação, embora não esteja completamente esclarecido, passa pela ligação dos componentes da fibra aos ácidos biliares e ao colesterol, inibindo a sua reabsorção intestinal e aumentando os níveis de excreção.

Como descrito acima, a incorporação de alfarroba nas dietas acarreta vantagens e desvantagens e não existem, ainda, estudos que determinem a quantidade máxima que se pode incluir, sem que isso prejudique o desempenho dos animais.

Numa tentativa de aferir um limite para a inclusão de alfarroba, sem manifestação dos efeitos negativos dos taninos sobre a digestibilidade, Gasmi-Boubaker *et al.* (2007) estudaram a incorporação de alfarroba a 0, 10 e 20%, numa dieta típica para coelhos. Segundo os autores, a utilização de alfarroba permitiu aumentar a digestibilidade da matéria seca, enquanto a digestibilidade da proteína e da fibra não tiveram diferenças significativas entre dietas. O aumento da digestibilidade da dieta é, em parte, justificado pelas diferentes composições da alfarroba utilizadas e pela quantidade de açúcares solúveis presentes, que são facilmente degradados e absorvidos pelos microrganismos intestinais. Contrariamente ao esperado, não houve alterações na digestibilidade da proteína, pois os níveis de alfarroba estudados, segundo os autores, não foram suficientes para que a ingestão de taninos provocasse alterações.

No entanto, Priolo *et al.* (1998) concluíram, num estudo sobre o uso da alfarroba em dietas para borregos, que a ingestão de matéria seca foi maior nas dietas experimentais do que na de controlo, prejudicando a eficiência alimentar e o rendimento em carcaça dos animais alimentados com as dietas que continham alfarroba. Outros estudos, como o de Guessous *et al.* (1988), Priolo *et al.* (2000) e Vasta *et al.* (2007), confirmaram que os taninos da alfarroba diminuem a digestibilidade da fração proteica e afetam o desenvolvimento normal em borregos.

**Objetivos**

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da inclusão de duas fontes de gordura distintas no desempenho produtivo dos coelhos e na composição dos ácidos gordos da carne. Para isso, escolheu-se a semente de linho como fonte de gordura vegetal insaturada, especialmente rica em ácidos gordos n-3, e a banha como fonte de gordura animal saturada.

De forma complementar, avaliou-se a polpa de alfarroba como potencial antioxidante da fração lipídica da carne. Foi igualmente avaliado o seu efeito no crescimento dos animais e na digestibilidade da dieta.

## **Material e métodos**

O ensaio zootécnico decorreu nas instalações do Departamento de Produção Animal do ISA. As análises laboratoriais tiveram lugar no laboratório Professor Pais de Azevedo, no ISA, e no laboratório de Tecnologia Alimentar, na FMV.

### **1. Dietas e delineamento experimental**

Quatro dietas foram formuladas de modo a representarem as 4 combinações possíveis de um delineamento fatorial 2x2. Os fatores em estudo foram a natureza do suplemento lipídico (semente de linho vs. banha de porco) e a inclusão de polpa de alfarroba (0% vs. 12%). As 4 dietas obtidas foram designadas: LL (linho com 0% polpa de alfarroba), BB (banha com 0% polpa de alfarroba), LA (linho com 12% de polpa de alfarroba) e BA (banha com 12% de polpa de alfarroba). A gordura de linho foi fornecida através de uma mistura comercial Valomega que contem 70% de Linho Tradi-Lin®, adquirida através da Reagro, Lisboa; a banha foi adquirida numa superfície comercial, em embalagem de 5 kg; a polpa de alfarroba, vulgo alfarroba ao longo do trabalho, foi adquirida na Casa Galrão, Malveira.

As 4 dietas em estudo foram formuladas de forma a respeitar o teor de NDF de 33,5% recomendado por Blas e Mateos (2010) e mantendo o equilíbrio isoproteico e isoenergético. A constituição em ingredientes apresenta-se no quadro 7, a composição química no quadro 8 e o perfil de ácidos gordos no quadro 9.

A preparação das dietas teve lugar na fábrica de rações anexa à Secção de Produção Animal do ISA. As matérias-primas que o justificavam foram sujeitas a uma moenda individual num moinho de martelos móveis, com crivo de 3 mm de diâmetro. Seguiu-se o doseamento das matérias-primas e a mistura das mesmas numa misturadora horizontal de fita em espiral. A mistura seguiu então para uma unidade de granulação, onde foi sujeita à passagem por um crivo com 3 mm. Após o arrefecimento e antes de se proceder ao embalamento, retiraram-se duas amostras representativas de cada dieta. Uma das amostras retiradas foi, posteriormente, moída, num moinho de laboratório, através de um crivo de 1mm de diâmetro, enquanto a outra foi congelada a -18 °C. Depois de moídas, as amostras foram armazenadas e identificadas, em frascos de vidro, até análise posterior.

**Quadro 7** – Composição centesimal (%) das dietas experimentais.

<b>Natureza da gordura</b>	<b>Linho</b>		<b>Banha</b>	
<b>Alfarroba</b>	0%	12%	0%	12%
<b>Designação</b>	<b>LL</b>	<b>LA</b>	<b>BB</b>	<b>BA</b>
<b>Matérias-primas</b>				
Valomega <sup>a</sup>	22,0	22,0	---	---
Banha	---	---	6,2	6,2
Alfarroba	---	12,0	---	12,0
Bagaço de soja	4,6	7,1	11,6	14,5
Trigo	32,0	20,0	26,0	13,3
Palha de trigo	17,5	15,0	22,3	20,1
Sêmea de trigo	---	---	10,0	10,0
Bagaço de girassol	12,0	12,0	12,0	12,0
Luzerna	10,0	10,0	10,0	10,0
Minerais e vitaminas (premix) <sup>b</sup>	0,5	0,5	0,5	0,5
Sal	0,5	0,5	0,5	0,5
Lisina	0,20	0,16	0,14	0,10
Metionina	---	0,2	0,06	0,1
Fosfato de bicálcico	---	---	---	---
Carbonato de cálcio	0,70	0,72	0,70	0,68

<sup>a</sup> A composição do produto comercial Valomega consiste em 70% de grãos de Linho Tradi-Lin® e 30% de subprodutos de cereais e oleaginosas.

<sup>b</sup> A composição da pré-mistura (por kg de dieta) Tecnimix 7008, adquirida através de Tecnologia e Nutrição Animal, sito em Aveiras de Cima, é: vitamina A, 10000 UI; vitamina D3, 1500 UI; vitamina E, 15 mg; vitamina K3, 1,5 mg; vitamina B1, 1 mg; vitamina B2, 2 mg; vitamina B6, 1,5 mg; vitamina B12, 0,01 mg; pantotenato de cálcio, 8 mg; ácido nicotínico, 25 mg; biotina, 0,02 mg; betaína, 136,5 mg; robenidina, 50 mg; Co, 0,7 mg; Cu, 5 mg; Fe, 30 mg; I, 1 mg; Mn, 15 mg; Se, 0,2 mg; Zn, 30 mg; butil-hidroxitolueno, 12,5 mg; etoxiquina 12,5 mg.

**Quadro 8** – Composição química (% MS) das dietas experimentais.

<b>Natureza da gordura</b>	<b>Linho</b>		<b>Banha</b>	
<b>Alfarroba</b>	0%	12%	0%	12%
<b>Designação</b>	<b>LL</b>	<b>LA</b>	<b>BB</b>	<b>BA</b>
<b>Composição química (% da MS)</b>				
Matéria seca	90,8	90,5	91,2	90,7
Matéria orgânica	90,5	91,4	90,9	90,8
Proteína bruta	16,9	17,0	16,7	17,0
Gordura bruta	8,8	8,8	8,9	9,1
NDF	34,2	35,8	36,5	38,4
ADF	20,0	22,6	19,5	23,3
ADL	5,5	7,2	4,3	6,4
Celulose (ADF-ADL)	14,5	15,5	15,2	16,9
Hemicelulose (NDF-ADF)	14,2	13,1	17,0	15,1
Cinza	9,5	8,6	9,1	9,3



**Quadro 9** – Perfil de ácidos gordos (% de ácidos gordos totais) das dietas experimentais e teor de ácidos gordos totais (mg / 100 g de alimento).

<b>Natureza da gordura</b>	<b>Linho</b>		<b>Banha</b>	
<b>Alfarroba</b>	0%	12%	0%	12%
<b>Designação</b>	<b>LL</b>	<b>LA</b>	<b>BB</b>	<b>BA</b>
<b>AGS (% AG totais)</b>				
10:0	0,0036	0,0045	0,0419	0,0418
12:0	0,0189	0,0219	0,0648	0,0622
14:0	0,103	0,098	1,071	1,067
15:0	0,029	0,027	0,053	0,048
16:0	6,1	5,7	22,5	22,2
18:0	2,1	2,1	9,7	9,9
20:0	0,153	0,135	0,225	0,226
<b>MUFA (% AG totais)</b>				
16:1 c9	0,041	0,041	1,76	1,83
18:1 t-6-t-8	0,0021	0,0031	0,0389	0,0403
18:1 t-9	0,0183	0,0152	0,1055	0,1119
18:1 t-10	0,0098	0,0102	0,052	0,0421
18:1 t-11	0,0022	0,0017	0,0236	0,0277
18:1 t-12	0,0042	0,0027	0,0174	0,0154
18:1 c9	14,4	14,0	38,6	39,8
18:1 c11	0,63	0,61	3,5	3,6
18:1 c-12	0,0242	0,0135	0,0705	0,0526
18:1 c-13	0,0106	0,011	0,12	0,13
20:1 c11	0,28	0,24	0,94	0,96
<b>PUFA (% AG totais)</b>				
18:2 n-6	19,8	18,9	17,7	17,2
18:3 n-3	56,3	58,1	3,4	2,7
<b>AG totais (mg /g alimento)</b>	104,1	107,3	76,1	74,0

## 2. Animais e procedimentos

O ensaio com os animais decorreu no Instituto Superior de Agronomia, no Departamento de Produção Animal. Para tal, foram utilizados 48 coelhos, com 28 dias de idade, de ambos os sexos. Foram pesados, identificados e distribuídos de forma condicionalmente aleatória, um por gaiola, perfazendo o total de 12 animais por dieta. A condição imposta à aleatorização teve como objetivo homogeneizar o peso inicial dos animais, que foi de 673 g.

As gaiolas, equipadas com comedouro e bebedouro, mediam 59x40x32 cm e tinham pavimento de rede, que possibilitou a recolha de fezes, para tabuleiros próprios. A temperatura da sala oscilou entre os 18-23 °C.

Os animais tiveram acesso *ad libitum* ao alimento e à água. Os refugos foram recolhidos e pesados três vezes por semana e a dieta foi igualmente pesada e distribuída nesses mesmos dias. O peso dos animais foi registado semanalmente.

Na 4ª semana de ensaio (42 dias de idade), foi feita a recolha diária de fezes, durante 4 dias. As fezes recolhidas foram pesadas e armazenadas num saco com a identificação de cada coelho, a -18 °C. No final do período de colheitas, as fezes de cada animal foram descongeladas e homogeneizadas. Durante esta etapa, os refugos foram pesados diariamente, tal como o alimento distribuído.

Ao fim de 6 semanas de ensaio, os animais foram abatidos (70 dias de idade), através de deslocação cervical e com recurso a atordoamento.

Foi feita colheita de sangue, intracárdica *post-mortem*, para tubos heparinados. O sangue foi centrifugado a 10.000 rpm durante 4 min. Recolheu-se 1 ml de plasma para 2 eppendorfs. As amostras foram conservadas a -18 °C, para posterior análise do colesterol.

O tubo digestivo e o aparelho urinário foram removidos, para obtenção do peso de carcaça, que incluía o fígado. O fígado, o estômago (cheio e vazio) e o ceco (cheio e vazio) foram pesados. Os conteúdos estomacais e cecais foram recolhidos e foi feita a medição do pH, num potenciómetro. No caso do conteúdo do ceco, procedeu-se à pesagem e à sua colocação num recipiente para ser seco em estufa a 104 °C, durante 24 h. Cerca de 15 g de conteúdo cecal foi dividido por 2 tubos – um deles com 10 ml de uma solução preparada com mono e di-potássio fosfato ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) a pH 6 e  $\text{CO}_2$  para posterior análise da atividade fibrolítica cecal e outro com 2 ml de ácido ortofosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ , 0,03 M), para análise dos ácidos gordos voláteis. Os tubos foram armazenados até análise a -70 °C e a -18 °C, respetivamente.

Procedeu-se à recolha do músculo *Longissimus dorsi* (entre as vértebras L1 e L7), para posterior quantificação de ácidos gordos e determinação da oxidação lipídica. As amostras permaneceram congeladas a -18 °C até análise.

### 3. Análises químicas

#### 3.1. Determinações analíticas dos alimentos e das fezes

As fezes foram descongeladas, homogeneizadas e secas durante 48 h, em estufa a 70 °C. Posteriormente, foram moídas num moinho de laboratório, com recurso a um crivo de 1 mm de diâmetro. Cada amostra de fezes foi colocada num frasco de vidro, devidamente identificado com o número do coelho e com a dieta correspondente.

A determinação da matéria seca (MS) foi realizada em tomas de 2 g, em estufa a 104 °C, durante 24 h. A partir da diferença entre o peso inicial e o peso seco, obteve-se a humidade (H). A cinza (Cz) foi determinada por inceneração da amostra, em mufla a 550 °C, durante a noite. A diferença de peso entre a amostra que saiu da estufa e a que saiu da mufla, permitiu obter o teor de cinzas quer do alimento, quer das fezes.

As fibras detergentes - NDF, ADF e ADL - foram determinadas de acordo com Van Soest *et al.* (1991), com tomas de 1 g. Para o NDF e ADF, o processo foi semelhante – as amostras foram colocadas num aparelho Fibertec\_t e foram fervidas, nos respetivos reagentes, durante 1 h, ao fim da qual os cadinhos foram lavados com água fervente e acetona e colocados em estufa a 104 °C, durante a noite. Os reagentes adicionados foram diferentes - solução detergente neutra e amílase termo resistente (usada apenas para os alimentos) no caso do NDF e solução detergente ácida para o ADF. A determinação do ADL foi realizada através da adição de ácido sulfúrico a 72% à amostra (proveniente do processo anterior de fervura). A amostra foi igualmente lavada com água a ferver e acetona e colocada em estufa durante a noite, a 104 °C. Posteriormente, foi colocada na mufla, a 550 °C, durante a noite, para aferir o peso incinerado. Os cálculos de NDF, ADF e ADL, foram feitos da seguinte forma:

$$\text{NDF (\%)} = ((w1 - w4) / \text{toma da amostra}) \times 100$$

$$\text{ADF (\%)} = ((w2 - w4) / \text{toma da amostra}) \times 100$$

$$\text{ADL (\%)} = ((w_3 - w_4) / \text{toma da amostra}) \times 100$$

Em que  $w_1$ ,  $w_2$ ,  $w_3$ , representam as pesagens efetuadas, após a amostra sair da estufa, para o processo de determinação do NDF, ADF e ADL, respetivamente, e  $w_4$  representa o peso da amostra depois de sair da mufla.

A proteína bruta (PB) foi determinada pelo Método de Kjeldahl semiautomático, de acordo com os critérios sugeridos por EGRAN (2001). Foram pesados 1 g de amostra para tubos de digestão. As amostras foram sujeitas a uma simulação de digestão com ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), a 400 °C, durante 60 min. Cada amostra foi, posteriormente, destilada com soda ( $\text{NaOH}$ ) e com uma solução recetora. Após a destilação, as amostras foram tituladas com ácido clorídrico ( $\text{HCl}$ ). O teor de PB foi determinado de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{PB} = \text{Azoto} \times 6,25 = ((v_1 - v_0) \times N \times 0,014 \times 100 / M) \times 6,25$$

$v_1$  – volume de  $\text{HCl}$  titulado

$v_2$  – volume ácido usado no ensaio em branco

$N$  – normalidade do  $\text{HCl}$

$M$  – toma da amostra

A gordura bruta (GB) foi determinada tendo por base o método de Soxhlet com hidrólise prévia, de acordo com os critérios sugeridos por EGRAN (2001). Para a hidrólise, pesou-se 1 g de amostra para tubos de digestão. Adicionou-se, a cada tubo, 1 g de celite e 100 ml de  $\text{HCl}$  3N. As amostras foram fervidas durante 1 h, após a qual se adicionaram 100 ml de água quente e se procedeu à filtragem da amostra. Os cadinhos, com a amostra resultante do processo, foram colocados em estufa, a 60 °C, durante a noite. Para a fase seguinte, os cadinhos foram retirados da estufa e colocados na unidade de extração, juntamente com um copo de alumínio, previamente pesado ( $w_1$ ), e 40 ml de éter de petróleo. As amostras foram fervidas, imersas no éter, durante 30 min e a extração decorreu ainda durante mais 60 min. Findo o processo, os copos de alumínio com o extrato foram colocados na estufa a 60 °C, durante a noite, para posterior pesagem ( $w_2$ ). A gordura bruta foi determinada de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Gordura bruta (\%)} = ((w_2 - w_1) / \text{toma da amostra}) \times 100\%$$

A determinação dos ácidos gordos das dietas encontra-se descrita no ponto 3.6.

Todas as análises foram efetuadas em duplicado e o resultado final foi obtido após a determinação da média das duas repetições. Salvo as exceções indicadas, os procedimentos foram iguais para os alimentos e para as fezes.

### **3.2. Determinação da atividade fibrolítica do conteúdo cecal**

Para a determinação da atividade fibrolítica cecal (AF), os conteúdos cecais conservados em tubos foram sujeitos a um ciclo de descongelação / congelação e sonicados, em 4 ciclos de 30 seg, com intervalos de 30 seg, de acordo com o proposto por Jehl *et al.* (1996), com o objetivo de provocar a ruptura das membranas celulares. Os tubos foram novamente descongelados e centrifugados a 1.200 rpm, durante 12 min. O sobrenadante de cada tubo foi recolhido e distribuído por 6 eppendorfs, que foram imediatamente congelados a -18 °C. Para determinação da AF, colocaram-se 3,5 ml de cada substrato em estudo – celulose, xilana e pectina (respetivamente, Carboximetilcelulose Sigma C-5678, Xilana Sigma X-0502, Pectina de citrinos Sigma P-9135) em tubos, juntamente com 1,05 ml de solução tampão fosfato a pH 6. Os tubos foram colocados em banho-maria a 37 °C. Os tempos de incubação estudados foram 0, 20 e 40 minutos. Para cada tempo foram preparados 3 eppendorfs com 700 µL de DNSA (3,5 ácido-dinitrosalicílico), previamente ativado com sulfito e glucose (1 ml de sulfito e 10 µL de glucose, por cada 100 ml de DNSA). A utilização de DNSA teve, como objetivo, parar a reação enzimática. Retirou-se 350 µL de cada amostra, dos eppendorfs iniciais, para os tubos que estavam previamente em banho-maria. Para cada tempo de incubação, retiraram-se 700 µL do conteúdo dos tubos para os eppendorfs com o DNSA, que foram, de seguida, reservados em gelo. No final, os eppendorfs foram colocados em banho-maria, a 100 °C, durante 20 min. As leituras das absorvências foram feitas num espectrofotómetro, a 575 nm de comprimento de onda. Previamente, foi preparada uma curva padrão, com 5 pontos, para cada um dos substratos (celulose, xilana e pectina).

### 3.3. Determinação dos ácidos gordos voláteis do conteúdo cecal

Para a análise dos ácidos gordos voláteis (AGV), os tubos com a amostra recolhida durante o abate, foram descongelados e centrifugados a 5.000 rpm, durante 15 min. Retiraram-se 2 amostras de 1 ml do sobrenadante, para eppendorfs, que se congelaram a -18 °C.

A separação e identificação dos AGV – acético 2:0, propiónico 3:0 e butírico 4:0 - foi realizada de acordo com Jouany (1982), num aparelho Perkin-Helmer, por cromatografia gasosa, utilizando-se como padrão interno o ácido metil valérico.

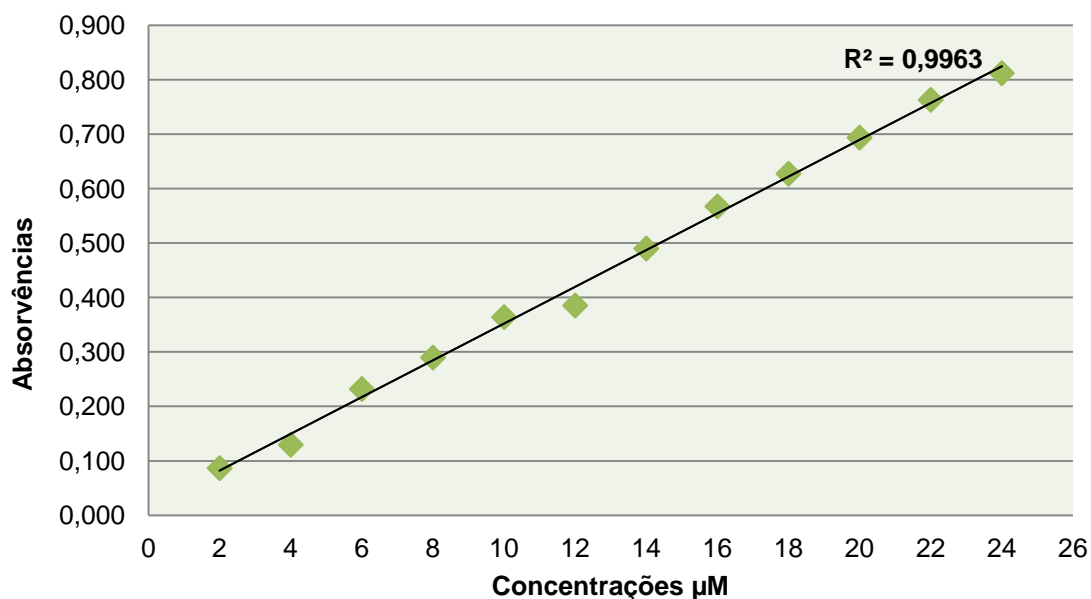
### 3.4. Determinação da oxidação lipídica da carne

A oxidação lipídica da carne após indução *in vitro* foi determinada pelo método adaptado de Mercier *et al.* (2004). O método TBARS – Thiobarbituric Acid Reactive Substances – baseia-se na reação do TBA com os produtos de decomposição dos hidroperóxidos, nomeadamente o malonaldeído (MDA), através de 2 etapas.

Etapa 1 – Pesou-se 1 g de carne descongelada para um frasco de vidro, ao qual se adicionou 10 ml de tampão fosfato de sódio (Merck, NI 283) 0,1M a pH 7,0. Homogeneizou-se a amostra com recurso a Ultra-Turrax, sobre gelo, durante 1 min, a 20.000 rpm. O homogeneizado foi transferido para um tubo de vidro, onde se adicionou 100 µL de solução de sulfato ferroso  $\text{FeSO}_4$  50mM (Merck, NI 125) e de peróxido de hidrogénio  $\text{H}_2\text{O}_2$  100mM (Merck, NI 323). Os tubos foram tapados e agitados rapidamente em vortex. Colocaram-se, de seguida, os tubos a incubar em banho-maria, a 37 °C durante 30 min, com agitação de 200 rpm. Após o tempo de incubação, parou-se a reação de oxidação com 2 mg de 3,5-Di-tert-4-butylhydroxytoluene (BHT, Sigma, NI 609).

Etapa 2 - Transferiu-se 0,5 ml de amostra para 3 tubos de vidro, aos quais se adicionou 0,25 ml de ácido 2-tiobarbitúrico TBA 1% (Merck, NI, 617) e 0,25 ml de ácido tricloroacético TCA 2,8% (Merck, NI 20). As amostras foram lentamente agitadas no vortex e fervidas em banho-maria durante 10 min. Após o banho-maria, as amostras arrefeceram à temperatura ambiente, durante 20 min e, de seguida, adicionou-se 2 ml de *n*-butanol. Os tubos foram agitados no vortex e foram à centrífuga durante 10 min a 3.500 rpm. As absorvências da fase superior do tubo foram lidas a 535 nm, contra o branco de *n*-butanol.

Previamente, foi preparada uma curva padrão com o reagente 1,1,3,3 – TetraEtoxiPropano (Sigma, NI 624 F) e com as concentrações de 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 e 24  $\mu\text{M}$ . Colocaram-se 0,5 ml de cada concentração em tubos de vidro, perfazendo um total de 3 réplicas por padrão. Procedeu-se de acordo com os passos da etapa 2, de forma a aferir os valores de absorvência padrão. A curva padrão obtida apresenta-se na figura 7, com um  $R^2$  de 0,9963.



**Figura 7** - Curva padrão obtida com o reagente 1,1,3,3 – Tetraetoxipropano.

### 3.5. Determinação colesterol plasmático

A determinação do colesterol foi realizada com recurso a um kit comercial denominado Cholestérol RTU<sup>TM</sup>, que doseia a quantidade de colesterol através de um método enzimático. O princípio do método é a sequência *colesterol esterase* – *colesterol oxidase* – *peroxidase* – *cromogénio*. Após a preparação dos reagentes, de acordo com a ficha técnica do produto, prepararam-se as amostras. Retirou-se 10  $\mu\text{L}$  de plasma previamente descongelado e juntou-se 1 ml do reagente colesterol. Posteriormente, o padrão, o branco e a amostra foram a incubar a 37 °C, durante 5 min. A leitura das absorvências foi feita a 50 nm de comprimento de onda.

### 3.6. Determinação dos ácidos gordos das dietas e do músculo

Os ácidos gordos (AG) foram determinados pelo método de transesterificação direta de amostras não liofilizadas, adaptado de O'Fallon *et al.* (2007).

As amostras do músculo *Longissimus dorsi* foram descongeladas e moídas, numa varinha mágica e foram novamente congeladas até análise. Posteriormente, 1 g de carne, previamente descongelada, foi pesado para um tubo (no caso das dietas pesaram-se 0,5 g). Adicionou-se 1 ml de padrão interno – ácido heptadecanóico, 17:0, 0,7 ml de solução de hidróxido de potássio em água 10N KOH e 5,3 ml de metanol. Os tubos foram agitados em vortex durante 10 seg e foram a incubar em banho-maria a 55 °C durante 1,5 h. A cada 20 min os tubos foram agitados em vortex durante 5 seg. Após a incubação, arrefeceram-se os tubos em água fria durante 10 min e adicionaram-se 0,58 ml de solução de ácido sulfúrico em água 24N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Foram novamente agitados em vortex durante 10 seg até ao aparecimento de precipitado. Fez-se uma nova incubação da amostra, durante 1,5 h a 55 °C com agitação em vortex a cada 20 min. Os tubos foram arrefecidos em água fria durante 10 min e adicionou-se 3 ml de hexano, seguidos de agitação em vortex durante 3 min. Os tubos foram a centrifugar durante 5 min e a fase de hexano foi retirada para um novo tubo, previamente preparado com 0,5 g de sulfato de sódio anidro. Agitaram-se novamente os tubos em vortex durante 5 seg. Centrifugaram-se os tubos durante 5 min e transferiu-se a fase de hexano, que continha os ácidos gordos, para viais.

As amostras foram analisadas por cromatografia gás-liquido, com deteção por espectrometria de massa, utilizando-se um equipamento Shimadzu GC-MS QP2010-plus instrument (Shimadzu, Kyoto, Japan) equipado com uma coluna capilar de sílica-fundida (CP-Sil 88, 100 m × 0.25 mm × 0.20 µm, Agilent Technologies Inc.). A quantificação dos ácidos gordos foi efetuada em modo SIM (monitorização dos iões selecionados), de acordo com o método descrito por Thurnhofer e Vetter (2005). Para a quantificação dos ácidos gordos saturados utilizou-se o ião-fragmento de  $m/z$  87, para os monoinsaturados o ião-fragmento de  $m/z$  74, e para os ácidos gordos polinsaturados utilizou-se a soma dos iões-fragmento de  $m/z$  79 e  $m/z$  81. Durante a análise, o injetor e o transferline foram mantidos a 250 °C. Utilizou-se hélio como gás de arraste a um fluxo de 1 ml / min e foi injetada 1 µl de amostra em modo split 1:100. A temperatura do forno foi programada para iniciar a 50 °C (mantida durante 1 min), aumentou depois a 50 °C / min até aos 150 °C (mantida durante 20 min), aumentou a 1 °C / min até aos 190 °C (mantida durante 1 min) e finalmente aumentou a 20 °C / min até aos 210 °C, onde foi mantida durante 40 min. Os resultados foram expressos em percentagem do total de ácidos gordos.



## **4. Cálculos**

### **4.1. Performances zootécnicas**

Para a determinação das performances zootécnicas, o ensaio experimental com os animais foi dividido em 2 períodos. O 1º período, entre os 28 e os 42 dias de idade, e o 2º período, desde os 42 até aos 70 dias. Contabilizou-se, igualmente, o período total de ensaio.

#### **4.1.1. Aumento de peso médio diário**

O aumento de peso médio diário calcula-se pela razão entre o ganho de peso entre dois períodos de tempo distintos e o intervalo de tempo entre as duas pesagens:

$$\text{APD (g / dia)} = \text{ganho de peso (g)} / \text{intervalo de tempo (dias)}$$

#### **4.1.2. Índice de conversão**

O índice de conversão é a quantidade de alimento ingerida pelo animal, necessária para que este aumente 1 kg de peso vivo, num determinado período de tempo:

$$\text{IC} = \text{alimento ingerido (kg)} / \text{ganho de peso (kg)}$$

#### **4.1.3. Rendimento em carcaça**

O rendimento em carcaça é a relação entre o peso depois de morto, sangrado, sem pele, sem extremidades e eviscerado (exceto fígado) e o peso do animal vivo.

$$\text{RC (\%)} = (\text{peso carcaça com fígado} / \text{peso vivo}) \times 100\%$$

## **4.2. Digestibilidade fecal aparente**

### **4.2.1. Coeficiente de utilização digestiva**

O coeficiente de utilização digestiva aparente permite obter a fração do nutriente absorvida pelo animal, através da diferença entre o que ingere e o que excreta, sobre o total:

CUDap = (quantidade ingerida – quantidade excretada) / quantidade ingerida

Este cálculo foi efetuado para a matéria seca, matéria orgânica (MO), proteína bruta, gordura bruta, NDF, ADF, ADL, celulose e hemicelulose.

#### 4.3. Perfil de ácidos gordos da carne

AGS= 10:0 + 12:0 + 14:0 + 15:0 *iso* + 15:0 + 16:0 + 17:0 + 18:0 + 20:0

*cis*-MUFA = 14:1 *c*-9 + 16:1 *c*-9 + 17:1 *c*-9 + 18:1 *c*-9 + 18:1 *c*-11 + 18:1 *c*-12 + 18:1 *c*-13 + 20:1 *c*-11

PUFA n-6 = 18:2 n-6 + 20:2 n-6 + 20:3 n-6 + 20:4 n-6 + 22:4 n-6 + 22:5 n-6

PUFA n-3 = 18:3 n-3 + 20:3 n-3 + 20:5 n-3 + 22:5 n-3 + 22:6 n-3

PUFA = PUFA n-6 + PUFA n-3 + 20:3 n-9

n-6 / n-3 = PUFA n-6 / PUFA n-3

P / S = (18:2 n-6 + 18:3 n-3) / (14:0 + 16:0 + 18:0)

#### 5. Análise Estatística

Os dados foram analisados de acordo com o arranjo factorial 2X2, incluindo no modelo os efeitos principais (natureza de gordura e inclusão de alfarroba) e a interação entre ambos. O tratamento estatístico foi efetuado através do procedimento “General Linear Model” (GLM) do programa SAS (SAS, 1991).

Os resultados zootécnicos dos 28-42 dias foram calculados com 47 coelhos – retirou-se um dos animais da dieta LA, por ter apresentado diarreia.

No 2º período de ensaio morreram 7 animais - 3 da dieta BA e 4 da dieta BB. Os resultados procedentes dos abates, da digestibilidade, dos AGV, da AF, da oxidação lipídica, do perfil

de AG da carne e do colesterol plasmático, foram obtidos a partir da análise de 41 coelhos. Aos resultados zootécnicos do 2º período, bem como do período total de ensaio, retiraram-se ainda mais 2 animais, um da dieta LA e outro da dieta LL, por apresentarem diarreia. O mesmo aconteceu na análise dos resultados dos AGV, onde se retirou um coelho da dieta LL.

Foram administrados antibióticos no 1º período de ensaio – Roxacin Solução Oral 1 Litro, cuja substância ativa é a enrofloxacin, com a dose 0,5 ml por litro de água e Denagard – Tiamulina Hidrogeno Fumarato, com a dose de 1 ml por litro de água. A medicação foi colocada no depósito de água, com capacidade para 50 L.

## **Apresentação de resultados**

### **1. Performances zootécnicas**

O peso vivo dos coelhos não foi afetado pela natureza da gordura, nem pela presença de alfarroba (quadro 10), em nenhum dos períodos considerados no ensaio. No entanto, verificou-se uma tendência para o peso vivo final ser superior com a utilização de banha ( $P=0,057$ ), obtendo-se o valor médio de 3007 g, contra os 2861 g obtidos com o linho.

A presença de banha teve um efeito positivo na ingestão diária de alimento no 1º período (28-42 dias) e no aumento de peso médio diário, quando se considerou o período total. A banha promoveu uma ingestão de 119 g, enquanto o linho não ultrapassou as 108,7 g ( $P=0,02$ ). O APD com dietas com banha foi de 55,5 g face às 52,3 g obtidas com dietas com linho ( $P=0,049$ ).

Não se verificou qualquer efeito da natureza da gordura sobre o índice de conversão nos períodos considerados.

A presença de alfarroba teve um efeito positivo sobre a quantidade de alimento ingerida no 1º período, com a diferença de 14,2 g entre as dietas com 0% e 12% de alfarroba ( $P=0,002$ ). O índice de conversão relativo ao 2º período (42-70 dias) e ao período total foi significativamente afetado pela presença de alfarroba ( $P=0,025$  e  $P=0,002$ , respetivamente). Em ambos os casos, a alfarroba aumentou o índice de conversão, com o resultado final de 2,89 para os animais alimentados com dietas com alfarroba e 2,72 para dietas sem alfarroba.

A presença de alfarroba aumentou a ingestão diária de alimento, quando a gordura utilizada foi a banha ( $P=0,031$ ), considerando o período total de ensaio. A dieta BA promoveu uma ingestão diária de 167,5 g, enquanto as restantes dietas se situaram entre 145 – 148 g, não diferindo estatisticamente.

**Quadro 10** – Efeito da natureza da gordura e da inclusão de alfarroba na ingestão de alimento e no crescimento, desde o desmame até ao abate (28-70 dias).

Natureza da gordura	Linho				Banha				DPR <sup>1</sup>	Efeito estatístico		
Alfarroba	0%		12%		0%		12%			Gordura	Alfarroba	Gordura x alfarroba
Dieta (n <sup>2</sup> )	LL	(n)	LA	(n)	BB	(n)	BA	(n)				
<b>Peso vivo (g)</b>												
28 dias	678	(12)	654	(12)	678	(12)	678	(12)	67,7	0,554	0,553	0,547
42 dias	1448	(11)	1439	(11)	1506	(8)	1491	(9)	182,2	0,363	0,841	0,963
70 dias	2928	(11)	2795	(11)	2949	(8)	3066	(9)	226,4	0,057	0,914	0,101
<b>1º período (28-42 dias de idade)</b>												
Ingestão diária de alimento (g)	104,6	(11)	112,8	(11)	108,8	(8)	129,2	(9)	14,64	0,020	0,002	0,160
Aumento de peso médio diário (g)	55,3	(11)	59,7	(11)	59,2	(8)	63,8	(9)	9,45	0,153	0,111	0,974
Índice de conversão	1,90	(11)	1,90	(11)	1,87	(8)	2,05	(9)	0,198	0,312	0,137	0,134
<b>2º período (42-70 dias de idade)</b>												
Ingestão diária de alimento (g)	169,5	(11)	165,3	(11)	163,6	(8)	187,2	(9)	21,99	0,270	0,184	0,059
Aumento de peso médio diário (g)	52,8	(11)	48,8	(11)	51,6	(8)	55,4	(9)	6,31	0,196	0,959	0,059
Índice de conversão	3,20	(11)	3,38	(11)	3,12	(8)	3,38	(9)	0,287	0,696	0,025	0,660
<b>Período total (28-70 dias de idade)</b>												
Ingestão diária de alimento (g)	148,0 a	(11)	145,4 a	(11)	145,2 a	(8)	167,5 b	(9)	16,86	0,089	0,082	0,031
Aumento de peso médio diário (g)	53,6	(11)	51,1	(11)	53,9	(8)	57,0	(9)	4,72	0,049	0,837	0,077
Índice de conversão	2,76	(11)	2,85	(11)	2,67	(8)	2,94	(9)	0,157	0,832	0,002	0,116

<sup>1</sup> DPR – desvio padrão residual.

<sup>2</sup> n – número de observações (coelhos) em cada dieta.

a, b – Dietas que não diferem significativamente ao nível de P=0,05.

## 2. Digestibilidade fecal aparente

Os coeficientes de utilização digestiva aparente das diversas frações analíticas consideradas, obtidos durante a 8ª semana de idade, apresentam-se no quadro 11.

A natureza da gordura teve um efeito significativo sobre a digestibilidade da gordura bruta e do NDF. No primeiro caso, a digestibilidade da GB das dietas com linho foi de 90,2% enquanto nas dietas com banha foi de 84,4% ( $P < 0,0001$ ). Na digestibilidade do NDF, a inclusão de banha nas dietas permitiu uma utilização digestiva desta fração de 31,2%, face aos 28,5% obtidos com linho ( $P = 0,012$ ).

A inclusão de alfarroba teve um efeito negativo na digestibilidade da matéria orgânica e da proteína bruta ( $P < 0,0001$  para ambos os casos). A presença de alfarroba teve um efeito positivo na digestibilidade da celulose, aumentando o valor de 24,5% em dietas sem alfarroba, para 29,7% nas dietas com alfarroba ( $P = 0,001$ ).

Verificaram-se interações entre a alfarroba e a gordura na digestibilidade da matéria seca ( $P = 0,017$ ), da matéria orgânica ( $P = 0,05$ ) e da hemicelulose ( $P = 0,005$ ). Para todas as frações, verificou-se que a diminuição da digestibilidade com a inclusão de alfarroba foi mais acentuada quando a gordura utilizada foi a banha.

**Quadro 11** – Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba no coeficiente de utilização digestiva (%) das várias frações da dieta, obtido a partir das fezes recolhidas durante a 8ª semana de idade.

Natureza da gordura	Linho		Banha		DPR <sup>1</sup>	Efeito estatístico		
	0%	12%	0%	12%		Gordura	Alfarroba	Gordura x alfarroba
Dieta (n <sup>2</sup> )	LL (12)	LA (12)	BB (9)	BA (8)				
<b>Coeficientes de utilização digestiva</b>								
Matéria seca	62,0 bc	60,7 b	63,0 c	59,1 a	0,02	0,562	<0,0001	0,017
Matéria orgânica	64,2 c	62,0 b	64,4 c	60,2 a	0,02	0,136	<0,0001	0,050
Proteína bruta	78,1	69,5	79,2	70,2	0,23	0,235	<0,0001	0,838
Gordura bruta	89,9	90,5	85,2	83,6	0,03	<0,0001	0,599	0,250
NDF	28,8	28,1	32,6	29,7	0,03	0,012	0,094	0,296
ADF	25,5	25,0	25,9	27,2	0,03	0,238	0,750	0,408
Celulose (ADF-ADL)	23,4	29,4	25,5	30,1	0,05	0,363	0,001	0,634
Hemicelulose (NDF-ADF)	33,5 a	33,6 a	40,2 b	33,7 a	0,04	0,004	0,007	0,005

<sup>1</sup> DPR – desvio padrão residual.

<sup>2</sup> n – número de observações (coelhos) em cada dieta.

a, b, c – Dietas que não diferem significativamente ao nível de P=0,05.

### 3. Rendimento em carcaça e desenvolvimento do trato digestivo

No quadro 12 apresentam-se os resultados da natureza da gordura e da inclusão da alfarroba sobre os valores médios dos parâmetros estudados no decorrer do abate, visto não se terem verificado interações significativas.

A natureza da gordura teve um efeito significativo sobre o peso do estômago cheio, vazio e sobre o seu conteúdo – ao adicionar banha às dietas, obtiveram-se pesos superiores para estes parâmetros ( $P=0,009$ ;  $P=0,013$  e  $P=0,017$ , respetivamente).

O rendimento em carcaça sofreu um efeito negativo da presença de alfarroba ( $P=0,022$ ). Os animais alimentados com dietas com 0% de alfarroba apresentaram um rendimento em carcaça de 63,9%, enquanto nas dietas com alfarroba o valor decresceu para os 62,3%.

Nenhum dos restantes parâmetros analisados foi afetado quer pela natureza da gordura, quer pela inclusão de alfarroba.

**Quadro 12** - Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba sobre o rendimento em carcaça, peso do trato digestivo e pH estomacal (valores médios).

	Natureza da gordura		Alfarroba		DPR <sup>1</sup>	Efeito estatístico	
	Linho	Banha	0%	12%		Gordura	Alfarroba
	n <sup>2</sup>	24	17	20	21		
<b>Parâmetros</b>							
Rendimento em carcaça (%)	62,9	63,3	63,9	62,3	2,08	0,510	0,022
Aparelho digestivo - sem fígado (g kg <sup>-1</sup> )	171,2	166,0	165,1	172,0	22,14	0,467	0,331
Fígado (g kg <sup>-1</sup> )	36,9	35,8	37,0	35,8	6,11	0,576	0,525
pH estômago	1,54	1,49	1,49	1,54	0,294	0,651	0,575
Estômago cheio (g kg <sup>-1</sup> )	34,4	40,6	37,0	37,9	7,14	0,009	0,694
Conteúdo estômago (g kg <sup>-1</sup> )	26,5	31,9	28,7	29,7	6,43	0,013	0,651
Estômago vazio (g kg <sup>-1</sup> )	7,8	8,8	8,3	8,3	1,16	0,017	0,912
Ceco cheio (g kg <sup>-1</sup> )	47,7	41,3	42,8	46,2	10,80	0,072	0,333
Conteúdo ceco (g kg <sup>-1</sup> )	36,3	30,9	31,8	35,4	9,27	0,074	0,240
Ceco vazio (g kg <sup>-1</sup> )	11,4	10,4	11,0	10,8	2,03	0,155	0,801

<sup>1</sup> DPR – desvio padrão residual.

<sup>2</sup> n – número de observações (coelhos) em cada dieta.



#### 4. Conteúdo cecal – atividade fibrolítica e ácidos gordos voláteis.

A natureza da gordura incluída nas dietas e a presença de alfarroba não tiveram efeito significativo no pH, na atividade fibrolítica ( $\text{mg açúcar h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MS}$ ) e na proporção de ácidos gordos voláteis ( $\text{mmol l}^{-1}$ ) do conteúdo cecal, tal como se observa no quadro 13.

Verificou-se uma interação entre a gordura e alfarroba na atividade pectinolítica ( $P=0,049$ ), em que a presença de alfarroba aumentou a atividade quando a gordura adicionada foi a banha, mas não exerceu nenhum efeito com a gordura foi o linho. Verificou-se também uma interação para a produção de 4:0, onde a inclusão de alfarroba diminuiu a quantidade deste AGV quando a gordura adicionada foi a semente de linho.

**Quadro 13** - Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba sobre o pH, os AGV e a atividade enzimática do conteúdo cecal, recolhido após o abate.

Natureza da gordura	Linho		Banha		DPR <sup>1</sup>	Efeito estatístico		
Alfarroba	0%	12%	0%	12%		Gordura	Alfarroba	Gordura x alfarroba
Dieta	LL	LA	BB	BA				
n <sup>2</sup>	12	12	8	9				
pH cecal	6,07	6,04	6,15	5,94	0,263	0,942	0,163	0,273
<b>Atividade enzimática (mg açúcar h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> MS)</b>								
n <sup>2</sup>	12	12	8	9				
Pectinase	122,4 ab	112,8 a	114,0 a	146,0 b	32,12	0,231	0,278	0,049
Xilanase	157,7	174,3	144,4	128,9	77,86	0,242	0,983	0,518
Celulase	21,7	27,3	23,1	23,6	9,26	0,697	0,304	0,394
<b>Ácidos gordos voláteis</b>								
n <sup>2</sup>	11	12	8	9				
Total (mmol / l)	55,6	61,2	57,8	64,9	12,86	0,478	0,132	0,861
2:0 <sup>3</sup> (mol / 100 mol)	76,6	79,3	77,3	77,7	2,74	0,646	0,087	0,198
3:0 <sup>3</sup> (mol / 100 mol)	7,3	8,0	7,0	6,3	1,77	0,083	0,919	0,227
4:0 <sup>3</sup> (mol / 100 mol)	16,1 a	12,8 b	15,7 a	16,0 a	2,55	0,091	0,078	0,03

<sup>1</sup> DPR – desvio padrão residual.

<sup>2</sup> n – número de observações (coelhos) em cada dieta.

<sup>3</sup> 2:0, 3:0 e 4:0 – ácido acético, propiônico e butírico, respetivamente.

a, b – Dietas que não diferem significativamente ao nível de  $P=0,05$ .

## 5. Perfil de ácidos gordos da carne

O perfil de ácidos gordos da carne de coelhos, em % do total de ácidos gordos, apresenta-se no quadro 14.

A quantidade de ácidos gordos totais, em mg / g de carne, não foi afetada pela natureza da gordura utilizada nas dietas, nem pela presença de alfarroba.

No grupo dos ácidos gordos saturados, o principal efeito significativo foi da natureza da gordura, visto que a banha levou a um aumento dos ácidos 10:0 ( $P=0,013$ ), 15:0 *anteiso* ( $P=0,012$ ), 12:0, 14:0, 16:0, 17:0 *anteiso*, 18:0 e 20:0 ( $P<0,0001$  para todos). Não se verificou efeito da alfarroba.

**Quadro 14** – Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba no perfil de ácidos gordos (%) da carne de coelho, a partir de amostras de *Longissimus dorsi*, e na quantidade de ácidos gordos totais (mg / g de carne).

Natureza da gordura	Linho		Banha		DPR <sup>1</sup>	Efeito estatístico		
Alfarroba	0%	12%	0%	12%		Gordura	Alfarroba	Gordura x alfarroba
Dieta (n <sup>2</sup> )	LL (12)	LA (12)	BB (8)	BA (9)				
<b>AGS (% de AG totais)</b>								
10:0	0,031	0,020	0,042	0,043	0,0202	0,013	0,424	0,350
12:0	0,040	0,037	0,063	0,063	0,0175	<0,0001	0,791	0,697
14:0	1,07	1,12	1,70	1,80	0,188	<0,0001	0,219	0,688
15:0 <i>iso</i>	0,015	0,016	0,016	0,015	0,0028	0,982	0,630	0,154
15:0 <i>anteiso</i>	0,015 a	0,020 ab	0,024 b	0,021 ab	0,0053	0,012	0,487	0,030
15:0	0,190 a	0,212 b	0,209 ab	0,203 ab	0,0199	0,421	0,232	0,031
16:0 <i>iso</i>	0,0028	0,0003	0,0036	0,0034	0,00104	0,068	0,983	0,601
16:0	16,1	16,8	23,8	23,8	1,38	<0,0001	0,395	0,377
17:0 <i>anteiso</i>	0,024	0,024	0,034	0,034	0,0037	<0,0001	0,963	0,708
18:0	4,8	5,4	6,8	6,7	0,74	<0,0001	0,333	0,119
20:0	0,050 a	0,057 b	0,065 c	0,064 c	0,0058	<0,0001	0,148	0,050

<sup>1</sup> DPR – desvio padrão residual.

<sup>2</sup> n – número de observações (coelhos) em cada dieta.

a, b – Dietas que não diferem significativamente ao nível de  $P=0,05$ .

**Quadro 14** (continuação) – Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba no perfil de ácidos gordos (%) da carne de coelho, a partir de amostras de *Longissimus dorsi*, e na quantidade de ácidos gordos totais (mg / g de carne).

Natureza da gordura	Linho		Banha		DPR <sup>1</sup>	Efeito estatístico		
Alfarroba	0%	12%	0%	12%		Gordura	Alfarroba	Gordura x alfarroba
Dieta (n <sup>2</sup> )	LL (12)	LA (12)	BB (8)	BA (9)				
<b>MUFA (% AG totais)</b>								
14:1 c-9	0,175 ab	0,109 a	0,134 ab	0,230 b	0,0857	0,148	0,568	0,005
16:1 c-7	0,149	0,159	0,332	0,346	0,0151	<0,0001	0,019	0,707
16:1 c-9	2,94 ab	2,06 a	3,51 bc	4,69 c	1,057	<0,0001	0,666	0,004
17:1 c-9	0,114 a	0,100 a	0,207 b	0,221 b	0,0200	<0,0001	0,990	0,026
18:1 t-6 a t-8	0,012	0,012	0,040	0,039	0,0040	<0,0001	0,931	0,666
18:1 t-9	0,077	0,073	0,151	0,166	0,0179	<0,0001	0,358	0,114
18:1 t-10	0,016	0,014	0,031	0,031	0,0039	<0,0001	0,682	0,504
18:1 t-11	0,045	0,053	0,033	0,038	0,0098	<0,0001	0,052	0,566
18:1 t-12	0,018	0,019	0,061	0,058	0,0116	<0,0001	0,748	0,665
18:1 c-9	20,6 b	19,3 a	36,0 c	36,1 c	1,12	<0,0001	0,131	0,051
18:1 c-11	1,11	0,96	3,07	3,02	0,101	<0,0001	0,006	0,101
18:1 c-12	0,084	0,069	0,109	0,097	0,0216	0,0004	0,056	0,789
18:1 c-13	0,041 a	0,030 a	0,089 b	0,096 b	0,0129	<0,0001	0,654	0,034
20:1 c-11	0,152	0,131	0,460	0,439	0,0386	<0,0001	0,096	0,989
<b>PUFA (% AG totais)</b>								
18:2 n-6	16,2	16,6	16,7	15,7	6,95	0,518	0,320	0,061
18:3 n-3	30,7	30,6	1,8	1,8	2,96	<0,0001	0,988	0,942
20:2 n-6	0,108	0,111	0,209	0,206	0,0147	<0,0001	0,909	0,564
20:3 n-9	0,039	0,039	0,259	0,268	0,0399	<0,0001	0,725	0,750
20:3 n-6	0,239	0,245	0,282	0,267	0,0657	0,128	0,828	0,635
20:3 n-3	0,368	0,343	0,049	0,051	0,0577	<0,0001	0,552	0,455
20:4 n-6	2,0	2,4	2,6	2,3	0,89	0,340	0,798	0,308
20:5 n-3	0,198	0,229	0,058	0,049	0,0746	<0,0001	0,646	0,399
22:4 n-6	0,216	0,216	0,591	0,562	0,1007	<0,0001	0,659	0,654
22:5 n-6	0,122	0,126	0,177	0,153	0,0450	0,007	0,489	0,358
22:5 n-3	1,78	2,08	0,31	0,26	0,5315	<0,0001	0,465	0,302
22:6 n-3	0,198	0,229	0,058	0,049	0,0746	<0,0001	0,646	0,399
<b>AG totais (mg / g carne fresca)</b>	20,86	18,80	21,40	20,05	5,958	0,639	0,374	0,853

<sup>1</sup> DPR – desvio padrão residual.

<sup>2</sup> n – número de observações (coelhos) em cada dieta.

a, b – Dietas que não diferem significativamente ao nível de P=0,05.

Nos ácidos 15:0 *anteiso* e 15:0 observou-se uma interação entre a gordura e a presença de alfarroba ( $P=0,030$  e  $P=0,031$ , respetivamente). Os animais alimentados com BB apresentaram concentrações mais elevadas de 15:0 *anteiso* do que os alimentados com LL e a inclusão de alfarroba pareceu atenuar esta diferença. Por outro lado, a inclusão de alfarroba na dieta aumentou o 15:0 quando a gordura adicionada foi o linho, não tendo efeito quando a gordura foi banha.

A natureza da gordura afetou os ácidos gordos monoinsaturados, visto que a banha levou a uma maior concentração dos ácidos 16:1 *c*-7, 16:1 *c*-9, 17:1 *c*-9, 18:1 *t*6 a *t*8, 18:1 *t*-9, 18:1 *t*-10, 18:1 *t*-12, 18:1 *c*-9, 18:1 *c*-11, 18:1 *c*-13 e 20:1 *c*-11 ( $P<0,0001$ , para todos os casos) e ainda do ácido gordo 18:1 *c*-12 ( $P=0,0004$ ).

No ácido 18:1 *t*-11 verificou-se o efeito oposto, pois a concentração mais alta a observou-se nos animais alimentados com dietas com linho ( $P<0,0001$ ).

Observaram-se também efeitos da alfarroba. No caso do ácido 16:1 *c*-7, a presença de alfarroba teve um efeito positivo ( $P=0,019$ ). Para o ácido 18:1 *c*-11, a concentração mais elevada foi obtida nas dietas sem alfarroba ( $P=0,006$ ) – animais das dieta LA e BA apresentaram valores de 1,99% enquanto os animais alimentados com LL e BB apresentaram uma concentração de 2,09%. Observaram-se interações significativas para os ácidos 14:1 *c*-9 ( $P=0,005$ ), 16:1 *c*-9 ( $P=0,004$ ), 17:1 *c*-9 ( $P=0,026$ ) e 18:1 *c*-13 ( $P=0,034$ ) – o padrão de reposta foi semelhante, com as concentrações mais elevadas a serem obtidas na dieta BA e as mais baixas com a dieta LA.

Nos ácidos gordos polinsaturados foi evidente o efeito que a natureza da gordura teve sobre a maior parte deles. A presença de 18:3 *n*-3, 20:3 *n*-3, 20:5 *n*-3, 22:5 *n*-3 e 22:6 *n*-3 foi significativamente afetada pela gordura da dieta ( $P<0,0001$ ), com o linho a aumentar a concentração destes ácidos gordos. No caso do 18:3 *n*-3, observou-se uma concentração de 30,6% na carne dos animais alimentados com dietas com linho, enquanto nas dietas com banha, o valor não ultrapassou os 1,8%. Os ácidos 20:2 *n*-6, 20:3 *n*-9, 22:4 *n*-6 ( $P<0,0001$  para todos) e 22:5 *n*-6 ( $P=0,007$ ) foram igualmente afetados pelo tipo de gordura, sendo beneficiados pela presença de banha nas dietas. Não se verificam efeitos da alfarroba nem efeitos de interação.

Os resultados para o teor de ácidos gordos saturados (AGS), monoinsaturados na forma *cis* (*cis* MUFA) e polinsaturados (PUFA) de cadeia longa (LC), *n*-3 e *n*-6, bem como os rácios *n*-6 / *n*-3 e *P* / *S*, apresentam-se no quadro 15.

As concentrações de AGS, *cis* MUFA e de LC *n*-6 PUFA, foram significativamente afetadas pela inclusão de banha nas dietas ( $P<0,0001$  para os dois primeiros e  $P=0,023$  para o último). As concentrações de PUFA, *n*-3 e LC *n*-3 PUFA, foram igualmente afetadas pela gordura, mas, neste caso, foram beneficiadas pela presença de linho ( $P<0,0001$  para todos).

O efeito da natureza da gordura estendeu-se ainda aos rácios n-6 / n-3 e P / S ( $P < 0,0001$ ), com o valor n-6 / n-3 a ser superior nas dietas com banha e P / S mais elevado nas dietas com linho.

Verificou-se uma interação entre a gordura e a alfarroba para os ácidos *cis*-MUFA ( $P = 0,006$ ). Não se verificou efeito da alfarroba.

**Quadro 15** - Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba sobre a quantidade (%) de AGS, *cis* MUFA, PUFA n-3 e n-6, rácio n-6/n-3 e P/S.

Natureza da gordura	Linho		Banha		DPR <sup>1</sup>	Efeito estatístico		
	0%	12%	0%	12%		Gordura	Alfarroba	Gordura x alfarroba
Dieta (n <sup>2</sup> )	LL (12)	LA (12)	BB (8)	BA (9)				
AGS	22,3	23,7	32,7	32,7	1,83	<0,0001	0,244	0,201
<i>cis</i> - MUFA	25,2 b	22,8 a	43,6 c	44,9 c	2,05	<0,0001	0,432	0,006
PUFA	52,1	53,1	23,1	21,7	2,30	<0,0001	0,792	0,121
n-6 PUFA	18,9	19,7	20,5	19,2	2,01	0,379	0,621	0,116
LC <sup>3</sup> n-6 PUFA	2,7	3,1	3,8	3,5	1,07	0,023	0,897	0,336
n-3 PUFA	33,2	33,5	2,3	2,2	2,44	<0,0001	0,877	0,863
LC <sup>3</sup> n-3 PUFA	2,5	2,9	0,5	0,4	0,6651	<0,0001	0,526	0,341
n-6 / n-3	0,58	0,60	9,09	9,47	1,196	<0,0001	0,650	0,690
P / S	2,17	2,05	0,57	0,55	0,241	<0,0001	0,366	0,588

<sup>1</sup> DPR – desvio padrão residual.<sup>2</sup> n – número de observações (coelhos) em cada dieta.<sup>3</sup> LC – Long chain.

a, b, c – Dietas que não diferem significativamente ao nível de P=0,05.

## 6. Oxidação lipídica

Os valores da oxidação lipídica induzida foram calculados em mg de MDA por kg de carne e são apresentados no quadro 16.

**Quadro 16** - Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba na oxidação lipídica induzida no músculo *Longissimus dorsi*.

Natureza da gordura	Linho		Banha		DPR <sup>1</sup>	Efeito estatístico		
	0%	12%	0%	12%		Gordura	Alfarroba	Gordura x alfarroba
Dieta (n <sup>2</sup> )	LL (12)	LA (12)	BB (8)	BA (9)				
mg MDA / kg carne	37,3 c	29,3 bc	13,8 a	23,4ab	10,29	<0,0001	0,805	0,010

<sup>1</sup> DPR – desvio padrão residual.

<sup>2</sup> n – número de observações (coelhos) em cada dieta.

a, b, c – Dietas que não diferem significativamente ao nível de P=0,05.

Verificou-se um efeito de interação entre a natureza da gordura e a alfarroba - a inclusão de alfarroba teve um demonstrou um efeito diferencial consoante a gordura que se adicionou às dietas, reduzindo a extensão da oxidação na carne dos animais alimentados com linho e aumentando a extensão da oxidação na carne dos animais alimentados com banha (P=0,01 para a interação gordura x alfarroba).

No entanto, é de referir o efeito da natureza da gordura sobre a extensão da oxidação lipídica após indução, com o valor mais elevado a ser observado nas dietas com linho. A dieta LL apresentou o maior teor de MDA, com 37,3 mg / kg de carne. A inclusão de banha nas dietas permitiu obter um valor mais baixo de MDA (18,6 mg / kg de carne), praticamente metade dos valores obtidos com linho.

## 7. Colesterol plasmático

Verificou-se um efeito diferencial da alfarroba, com a sua inclusão a levar a um aumento na concentração de colesterol plasmático quando a gordura na dieta foi banha e não tendo efeitos quando a gordura na dieta foi semente de linho ( $P=0,006$  para a interação gordura x alfarroba) (quadro 17).

**Quadro 17** - Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba na concentração plasmática de colesterol nos coelhos (colheitas feitas após o abate).

Natureza da gordura	Linho		Banha		DPR <sup>1</sup>	Efeito estatístico		
	0%	12%	0%	12%		Gordura	Alfarroba	Gordura x alfarroba
Dieta (n <sup>2</sup> )	LL (12)	LA (12)	BB (8)	BA (9)				
mg / dl de sangue	52,0 ab	47,8 a	61,6 b	81,8 c	13,30	<0,0001	0,065	0,006

<sup>1</sup> DPR – desvio padrão residual.

<sup>2</sup> n – número de observações (coelhos) em cada dieta.

a, b, c – Dietas que não diferem significativamente ao nível de  $P=0,05$ .



## **Discussão de resultados**

### **1. Performances zootécnicas**

Neste estudo, a utilização de diferentes fontes de gordura não afetou o peso vivo final, nem o rendimento em carcaça. Contudo, observámos uma diferença de 146 g entre o peso vivo dos animais alimentados com dietas com linho e dietas com banha (2861 g vs. 3007 g,  $P=0,057$ ). Além disso, o aumento de peso médio diário nas dietas com banha foi superior ao das dietas com linho (55,5 g / d vs. 52,3 g / d), o que tende a sugerir que a banha possibilitou que os animais atingissem um maior peso vivo.

A ausência de efeito da natureza da gordura está de acordo com Dalle Zotte (2002), que afirmou, numa das suas revisões, que a fonte de gordura – animal ou vegetal – adicionada às dietas não tem efeito significativo sobre o crescimento, performance e características da carcaça. No entanto, a partir da revisão de Pla *et al.* (2008) pode concluir-se que os coelhos alimentados com gordura animal atingem pesos vivos e de carcaça superiores aos animais alimentados com dietas enriquecidas com gordura vegetal (girassol e óleo de linho). Relativamente à incorporação de linho nas dietas para coelhos, Bianchi *et al.* (2006) obtiveram, como resultado, animais com peso vivo inferior aos alimentados com dietas controlo. Por outro lado, Dal Bosco *et al.* (2004) não observaram efeitos negativos nos parâmetros produtivos dos animais alimentados com dietas com linho.

A maior ingestão diária de alimento verificada nos animais da dieta BA, ao longo do 1º período de ensaio, deve-se provavelmente a uma maior palatibilidade desta dieta. A gordura animal mostrou-se mais atrativa para os coelhos, possivelmente pelo odor mais acentuado, comparativamente à gordura vegetal, que foi incluída sob a forma de semente. A alfarroba é, igualmente, um ingrediente com uma elevada palatibilidade devido ao alto teor de açúcares (Priolo *et al.*, 1998). A interação entre o tipo de gordura e alfarroba, observada para a ingestão no período total de ensaio, confirma que a combinação dos dois ingredientes permitiu tornar as dietas mais apetecíveis para os animais. No caso da dieta com linho, a presença de alfarroba não foi suficiente para aumentar a ingestão de alimento – os animais alimentados com as dietas LA, LL e BB ingeriram em média 146,2 g / d, enquanto os animais alimentados com BA ingeriram 167,5 g / d. A dieta BA foi significativamente diferente das restantes e, no decorrer do ensaio, notou-se sempre uma maior ingestão por parte dos animais alimentados com esta dieta.

O efeito negativo da alfarroba no índice de conversão pode ser atribuído ao seu elevado teor de taninos (Owen *et al.*, 2003). Os taninos tendem a diminuir a digestibilidade da dieta e, como consequência, os animais têm que ingerir mais alimento para suprir as suas necessidades, tal como demonstrado por Vasta *et al.* (2007), num estudo conduzido em borregos. O facto da ingestão diária de alimento ter sido superior nos animais alimentados com a dieta BA não se converteu em maior peso vivo final, o que leva a crer que houve um menor aproveitamento dos nutrientes ingeridos, como se confirma com a menor digestibilidade da MO, MS e PB verificada nas dietas com alfarroba.

## **2. Rendimento em carcaça e peso dos órgãos digestivos**

Nas variáveis analisadas no decorrer do abate, verificou-se um efeito positivo da banha no peso do estômago cheio, vazio e do seu conteúdo. Este efeito teve origem, possivelmente, na maior ingestão diária de alimento verificada nos animais alimentados com dietas com banha – apesar do efeito ter sido significativo apenas no 1º período de ensaio denota-se, através da observação do quadro 10, que a ingestão foi sempre superior nas dietas com banha. Pode afirmar-se, no contexto do número de animais utilizados no ensaio, que o estômago se adaptou à maior ingestão de alimento (de Bias *et al.*, 1986). O mesmo se conclui da análise do peso do conteúdo gástrico – os animais alimentados com banha apresentaram mais conteúdo, sinal de uma maior ingestão de alimento.

O rendimento em carcaça foi menor nos animais alimentados com dietas com 12% de alfarroba (63,9% vs. 62,3% para dietas com 0 e 12% de alfarroba, respetivamente). Apesar da presença de alfarroba não ter provocado efeitos significativos nas variáveis que influenciam o rendimento em carcaça – peso vivo, peso do fígado e peso do tubo digestivo – pode observar-se, no quadro 12, que na maior parte das variáveis analisadas, à exceção do peso do fígado, estômago e ceco vazios, os pesos foram sempre superiores nas dietas com alfarroba. A diferença entre os pesos nestas variáveis não teve, de forma individual, significado estatístico no entanto, a soma de todos os valores pode ter levado ao menor rendimento da carcaça.

### 3. Digestibilidade fecal aparente, atividade fibrolítica e ácidos gordos voláteis

A gordura com origem no linho teve uma maior digestibilidade do que a gordura com origem na banha (90,2% vs 84,4%,  $P < 0,0001$ ). Existem vários autores que confirmam, quer para coelhos (Fernández-Carmona *et al.*, 2000; Casado *et al.*, 2010; Xiccato, 2010) quer para aves e suínos (Fernández-Carmona *et al.*, 2000), que os ácidos gordos polinsaturados têm uma maior digestibilidade do que os saturados, pois são emulsificados e absorvidos mais facilmente. Casado *et al.* (2010) salientam a menor digestibilidade dos ácidos gordos 16:0 e 18:0, enquanto os valores mais elevados pertencem aos ácidos 18:2 e 18:3. Apesar de no presente trabalho não ter sido aferida a digestibilidade dos ácidos gordos, é possível perceber, a partir da análise do quadro 9, que as dietas com banha possuíam um maior teor de ácidos gordos saturados, o que pode justificar a menor digestibilidade da GB das dietas com este tipo de gordura adicionada.

Quanto ao efeito positivo da banha sobre a digestibilidade do NDF e da hemicelulose, uma possível justificação poderia estar relacionada com um maior tempo de permanência do alimento no ceco e, conseqüentemente, uma menor ingestão de alimento. No entanto, tal não se verificou – o peso do ceco cheio, vazio e do seu conteúdo não sofreu efeito da natureza da gordura e, além disso, os animais alimentados com dietas com banha ingeriram mais alimento, sinal de que o trânsito digestivo foi mais rápido. Somente os pesos do estômago cheio, vazio e do conteúdo foram superiores nos animais alimentados com banha, mas não é possível determinar se estes pesos foram uma consequência da maior ingestão de alimento ou de uma digestão mais prolongada. Falcão e Cunha *et al.* (2004) observaram resultados semelhantes ao incluir 6% de óleo de girassol nas dietas – os animais apresentaram coeficientes de digestibilidade do NDF e da hemicelulose mais elevados, bem como um aumento do peso do estômago vazio e diminuição do peso do ceco vazio.

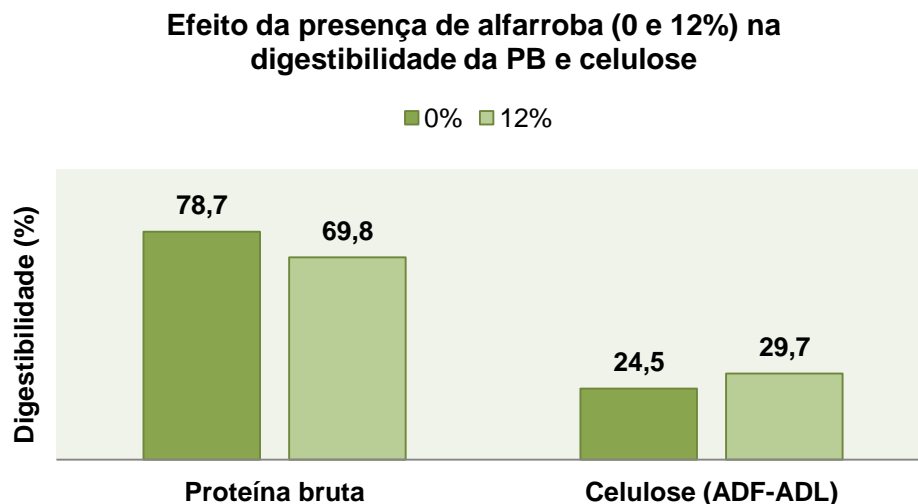
O efeito negativo que a presença de alfarroba teve sobre a digestibilidade MO e PB era esperado e tem sido relatado em vários trabalhos (Figura 8). Maertens e Struklec (2006) referem que os taninos podem estabelecer ligações com os microrganismos proteolíticos, reduzindo a sua atividade. Priolo *et al.* (2000) e Kotrotsios *et al.* (2010) verificaram que a inclusão de alfarroba diminuiu o aumento de peso diário, o peso vivo final e a digestibilidade dos nutrientes, em borregos e suínos. No entanto, em coelhos, Gasmi-Boubaker *et al.* (2007) não obtiveram diferenças significativas para a digestibilidade aparente da proteína em dietas com 0, 10 e 20% de alfarroba. A complexidade e variedade das estruturas que compõem os taninos torna difícil encontrar uma justificação que se adeque à dispersão dos resultados que existem na bibliografia.

A inclusão de alfarroba demonstrou ter um efeito negativo sobre a digestibilidade da hemicelulose, quando a gordura adicionada foi banha. Face à bibliografia existente, não foi possível determinar uma causa para a menor digestibilidade da hemicelulose quando se adiciona alfarroba à banha.

A determinação da hemicelulose por diferença (NDF-ADF) pode, igualmente, ser influenciada pela presença de taninos já que, segundo Heuzé *et al.* (2012), os valores de ADF e ADL apresentam uma elevada variabilidade devido aos complexos que se formam entre os taninos e as proteínas, os quais podem ser detetados como fibra artificial.

Os taninos, embora tenham uma maior afinidade para estabelecer ligações com as proteínas, podem também diminuir a digestibilidade de outros componentes da dieta, através da inibição de enzimas digestivas. A natureza das ligações estabelecidas varia consoante o tipo e quantidade de proteínas presentes na dieta. Desta forma, se houver formação de complexos entre os taninos e as proteínas, o efeito negativo dos taninos sobre outros componentes da dieta poderá ser neutralizado. As fontes de proteína entre as duas dietas foram diferentes – as dietas com linho tinham a proteína da semente de linho enquanto nas dietas com banha o bagaço de soja foi o principal fornecedor de proteína. Assim, poder-se-ão ter formado menos ligações entre a proteína das dietas com banha e os taninos, deixando-os mais disponíveis para que inibissem a ação das enzimas que atuam sobre a hemicelulose, baixando assim a digestibilidade desta fração, que tende a ser superior com a gordura banha, comparativamente ao linho. No caso das dietas com linho, onde a digestibilidade da hemicelulose é menor, não houve penalização com a adição da alfarroba porque, hipoteticamente, os taninos poderão ter formado mais ligações com as proteínas, ficando indisponíveis para a formação de outro tipo de complexos.

A digestibilidade da celulose foi positivamente afetada pela inclusão de alfarroba (24,5% vs. 29,7%, para dietas sem e com alfarroba, respetivamente). Mais uma vez, os resultados não permitem retirar muitas conclusões. Uma possibilidade seria que a presença de taninos afeta-se, de forma diferenciada, a atividade fibrolítica. No entanto, não se verificou efeito da alfarroba sobre a atividade enzimática cecal.



**Figura 8** - Efeito da presença de polpa de alfarroba (0 e 12%) na digestibilidade aparente da proteína bruta e celulose (valores médios).

No caso das interações verificadas na digestibilidade da matéria seca e da matéria orgânica e apesar da natureza da gordura não ter apresentado efeitos significativos na digestibilidade destas frações, a inclusão de alfarroba penalizou as duas dietas, diminuindo os valores de digestibilidade. No entanto, a diminuição foi mais acentuada no caso das dietas com banha.

Na análise da atividade fibrolítica e dos ácidos gordos voláteis, como estimadores da atividade enzimática e microbiana, verificou-se uma ausência de efeitos quer da gordura quer da alfarroba.

Verificou-se uma interação entre a gordura e a presença de alfarroba, para a atividade da pectinase – a alfarroba levou ao aumento da atividade desta enzima quando a gordura utilizada foi a banha. A atividade pectinolítica é superior em dietas com elevado teor de pectinas (Falcão e Cunha *et al.*, 2004). A alfarroba é rica em açúcares (Makris e Kefalas, 2004) que podem ter favorecido o desenvolvimento da flora pectinolítica. A ausência de efeito quando a origem da gordura foi semente de linho pode ser justificada pelas diferentes fontes de fibra presentes na dieta.

A xilose é o principal monómero constituinte da hemicelulose (Marounek e Vovk, 1995) portanto, seria de esperar que a maior digestibilidade da hemicelulose verificada nas dietas com banha levasse a uma diferença na atividade enzimática da xilanase entre os dois tipos de gordura. No entanto, apesar da atividade elevada desta enzima, não se verificaram diferenças significativas provocadas pela natureza da gordura.

Os ácidos gordos voláteis encontram-se dentro das proporções consideradas normais – 60-70% de acético, 15-20% de butírico e 10-15% de propiónico – descritas por Davies e Davies (2003). No entanto, verificou-se uma interação entre a gordura e a alfarroba na produção de 4:0 – a proporção deste AGV foi menor quando se adicionou alfarroba à dieta com linho. Falcão e Cunha *et al.* (1996) referiram que a proporção de AGV do conteúdo cecal pode ser influenciada pelo nível e natureza da fibra e pela adição de gordura às dietas. Não se verificou efeito da natureza da gordura sobre os AGV e, possivelmente, a adição de alfarroba com o linho pode ter alterado alguns padrões de fermentação microbianos.

#### 4. Perfil de ácidos gordos da carne

Através da observação dos resultados da análise dos ácidos gordos foi possível obter quatro observações importantes – 1) o perfil de ácidos gordos da carne acompanhou as variações da natureza da gordura das dietas; 2) a interação entre a gordura e a alfarroba verificada em vários ácidos gordos monoinsaturados sugeriu uma possível modulação da atividade da enzima delta-9-desaturase; 3) uma ausência generalizada de efeito da alfarroba; e 4) a prática de cecotrofia permitiu a incorporação de ácidos gordos microbianos na carne.

Tal como foi referido no ponto 3 da revisão bibliográfica – *Gorduras na Alimentação de Coelhos* – os animais monogástricos demonstram aptidão para incorporar, nos tecidos adiposos, os ácidos gordos provenientes da dieta, isto é, a gordura destes animais é moldável, consoante a natureza da fração lipídica dos alimentos (Oliver *et al.*, 1997; Fernández-Carmona *et al.*, 2000). Os ácidos gordos da dieta podem, após a absorção, ser incorporados nos tecidos dos animais ou servir de substrato para a biossíntese de novos ácidos gordos, através de enzimas endógenas. Além desta característica, comum à generalidade dos monogástricos, os coelhos apresentam, à semelhança dos ruminantes, ácidos gordos de origem microbiana nos seus tecidos, incluindo ácidos gordos ramificados *iso* e *anteiso* e diversos isómeros *trans* octadecenóicos, intermediários da hidrogenação microbiana dos PUFA da dieta. A presença destes ácidos gordos de origem microbiana é explicada pela prática de cecotrofia, que consiste na ingestão da biomassa microbiana cecal, presente nos cecotrofos (Dalle Zotte e Szendrő, 2011).

Como esperado, as dietas com linho aumentaram a proporção de ácido  $\alpha$ -linolénico (18:3 n-3), comparativamente à banha (Colin *et al.*, 2007; Gigaud e Combes, 2008). A inclusão de linho permitiu obter um teor de 18:3 n-3 de 30,6% face aos 1,8% que se obtiveram com a

banha. Por outro lado, nas dietas com linho, a percentagem de 16:0 (ácido palmítico) foi de 16,4% enquanto com banha foi de 23,8%. Pode afirmar-se que a gordura vegetal utilizada neste ensaio permitiu uma redução acentuada do teor de 16:0, que é o principal ácido gordo com potencial hipercolestéremico (Xiccato, 1999; Bessa *et al.*, 2007).

O ácido linoleico (n-6) e o  $\alpha$ -linolénico (n-3) servem de precursores para os ácidos gordos de cadeia longa – araquidónico (20:4 n-6), eicosapentaenóico (20:5 n-3 EPA) e docosahexanóico (22:6 n-3 DHA). Estes, embora não estejam presentes na dieta, surgem no músculo após a ação das enzimas sobre os respetivos precursores. A delta-6-dessaturase é a principal enzima que atua na conversão do  $\alpha$ -linolénico e linoleico, existindo assim uma competição entre ambos os ácidos gordos – o excesso de um destes ácidos gordos (geralmente o linoleico) inibe a dessaturação do outro (Williams, 2000). Apesar dos valores de ácido linoleico serem semelhantes entre as dietas com linho e com banha, o teor de  $\alpha$ -linolénico é, como já referido, mais elevado nas dietas com linho.

A quantidade de EPA e DHA presentes no músculo foram de 0,214%, para ambos os ácidos gordos, nas dietas com linho. Estes valores ficam aquém dos que estão relatados na bibliografia – 0,57% e 1,17% (Combes, 2004) em percentagem de ácidos gordos totais, para EPA e DHA respetivamente – e podem estar relacionados com a baixa eficiência da conversão de ácido  $\alpha$ -linolénico nos ácidos gordos de cadeia longa (Petracci *et al.*, 2009). No entanto, ao comparar as duas gorduras em estudo, a dieta com linho permitiu obter cerca de 4 vezes mais EPA e DHA do que a dieta com banha.

Hernández *et al.* (2000) observou uma correlação negativa entre a quantidade de ácido linoleico (18:2 n-6) e ácido oleico (18:1 *cis*-9) – os PUFA são potentes inibidores da delta-9 dessaturase, enzima responsável pela síntese de ácidos gordos monoinsaturados da família n-9 (Nakamura e Nara, 2004; Kouba *et al.*, 2008; Vasta *et al.*, 2009).

Embora as quantidades de 18:2 n-6 sejam semelhantes entre as dietas e a carne dos animais alimentados com linho e com banha, o teor de 18:1 *cis*-9 foi francamente mais reduzido no músculo dos animais alimentados com dietas com linho (20% vs. 36%,  $P < 0,0001$ ). A causa desta grande diferença na concentração de 18:1 *cis*-9 no músculo pode ter sido apenas um reflexo da concentração deste ácido gordo nas dietas (14,2% vs. 39,4%, respetivamente para dietas com linho e dietas com banha). Contudo a elevada ingestão e consequente deposição muscular de 18:3 n-3, permitida pelas dietas com linho, poderá também tido algum tipo de efeito inibitório sobre a delta-9 dessaturase.

Aquando da observação das concentrações individuais dos ácidos *cis*-MUFA e, em particular, do somatório dos produtos da delta-9 dessaturase (i.e. 14:1 *cis*-9, 16:1 *cis*-9, 17:1 *cis*-9, 18:1 *cis*-9 e soma *cis* MUFA) verificou-se que todos apresentaram um padrão comum,

refletido nas interações significativas (exceto para o 18:1 *cis*-9 em que  $P=0,051$ ) entre a natureza da gordura e a presença de alfarroba nas dietas. Assim, a alfarroba parece ter inibido a atividade da delta-9 dessaturase quando adicionada à dieta com linho, mas não quando foi adicionada à dieta com banha. Vasta *et al.* (2009) já haviam reportado, em borregos, suspeitas de modulação da expressão e atividade da delta-9 dessaturase por ação de taninos. Estes autores observaram que a adição de extrato de quebracho, rico em taninos, aumentava a expressão e a quantidade de enzima no músculo de borregos quando a dieta base era erva fresca mas não quando era concentrado.

No nosso estudo, observámos uma aparente redução da atividade da delta-9 dessaturase associada à inclusão de alfarroba, que apenas se manifestou quando a gordura utilizada foi linho. Desta forma, o nosso resultado não é enquadrável com o observado por Vasta *et al.* (2009), já que não só a espécie animal é diferente, como o tipo de dietas e níveis de PUFA ingeridos e depositados são bem distintos. Contudo, os nossos dados reforçam a ideia que os taninos podem de algum modo modular a síntese de MUFA nos animais. Explicações minimamente plausíveis para o eventual papel modulador dos taninos sobre atividade da delta-9 dessaturase não estão disponíveis.

Detetámos, também, na carne de coelho, diversos ácidos gordos ramificados, tipicamente encontrados na carne e leite de animais ruminantes, onde a população microbiana ruminal contribui significativamente para a matéria orgânica digerida e absorvida (Navarro, 2011). A sua presença no perfil de ácidos gordos da carne de coelho advém da prática de cecotrofia (Dalle Zotte e Szendrő, 2011) – os coelhos ingerem, em determinados períodos do dia, as fezes moles, que correspondem ao conteúdo cecal, constituído por vários nutrientes (proteínas, vitaminas, ácidos gordos voláteis) e bactérias ricas nos ácidos gordos referidos.

Outros ácidos gordos, certamente derivados do metabolismo microbiano cecal, são os intermediários da biohidrogenação dos ácidos gordos insaturados da dieta. Muitas bactérias fibrolíticas anaeróbias *gram* + são sensíveis aos efeitos tóxicos dos ácidos gordos insaturados, pelo que possuem sistemas enzimáticos capazes de os isomerizar e hidrogenar, originando isómeros que frequentemente apresentam duplas ligações *trans*. Entre estes intermediários da biohidrogenação dos PUFA encontram-se os isómeros conjugados do ácido linoleico (CLA) que possuem efeitos biológicos benéficos, dos quais se destaca a ação anticancerinogénica (Bessa *et al.*, 2000). No presente trabalho, não se verificou a presença de CLA, embora outros autores (Hernández, 2008; Dalle Zotte e Szendrő, 2011; Peiretti, 2012) tenham referido que a sua incorporação é possível, através da cecotrofia.

Os intermediários da biohidrogenação encontrados neste trabalho incluíram os 18:1 *trans*-6 a 8 (que coeluem juntos), 18:1 *trans*-9, 18:1 *trans*-10, 18:1 *trans*-11, 18:1 *trans*-12,



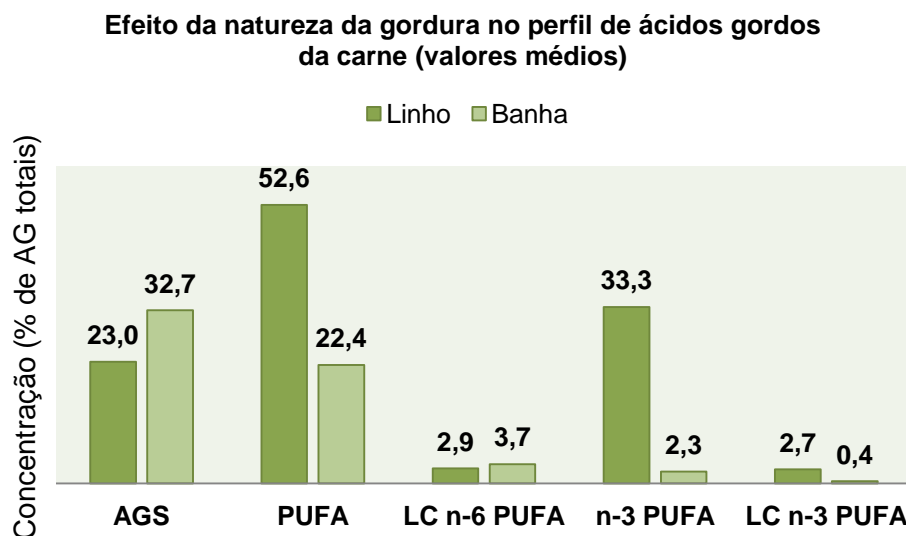
18:1 *cis*-12, 18:1 *cis*-13. Apesar de presentes em concentrações muito baixas, todos estes ácidos gordos, exceto o 18:1 *trans*-11, foram sistematicamente mais elevados nas dietas com banha do que nas dietas com linho, não tendo sido afetados pela alfarroba. Isto pode parecer um pouco paradoxal já que as dietas com linho apresentavam uma maior concentração de ácidos gordos insaturados (substratos para a biohidrogenação) do que as dietas com banha.

Uma explicação possível seria a banha conter já estes ácidos gordos, que assim seriam derivados, em grande parte, da dieta. De facto, as dietas com banha apresentaram baixos teores destes ácidos gordos que, contudo, foram cerca de 5 vezes superiores aos valores vestigiais encontrados nas dietas com linho. O único destes isómeros que apresentou valores mais elevados na carne de animais alimentados linho foi o 18:1 *trans*-11. Este ácido gordo é o principal intermediário da biohidrogenação do ácido linolénico no rúmen (Dalle Zotte e Szendrő, 2011) e a sua maior concentração na carne de animais alimentados com linho sugere que seja proveniente do metabolismo microbiano cecal.

No entanto, o conhecimento sobre as vias de biohidrogenação que ocorrem nas comunidades microbianas do ceco do coelho é ainda muito limitado.

Em geral a alfarroba apresentou uma notável ausência de efeitos sobre a composição e quantidade dos ácidos gordos na carne. Estes resultados estão de acordo com a composição da alfarroba, descrita por Heuzé *et al.* (2012), que é pobre em gordura, com teores inferiores a 1%. A exceção fez-se para os ácidos gordos 16:1 *cis*-7 e 18:1 *cis*-11. No primeiro caso, o 16:1 *cis*-7 foi superior na carne nos animais que ingeriram alfarroba e, no segundo caso, a concentração de 18:1 *cis*-11 foi inferior nestes animais. Possivelmente, a presença de taninos poderá ter tido algum efeito na concentração destes ácidos gordos.

Os resultados apresentados para os somatórios de ácidos gordos saturados e polinsaturados (Figura 9) estão de acordo com o esperado – a dieta com linho levou ao aumento da quantidade de PUFA no músculo, especialmente da fração n-3 (33,3% vs 2,2% com linho e banha, respetivamente) – estes valores justificam-se pelo elevado teor de ácido  $\alpha$ -linolénico presente nas dietas com linho e está de acordo com os resultados apresentados por Maertens *et al.* (2008) e Bianchi *et al.* (2009). Bianchi *et al.* (2009) sugeriram uma regressão linear entre a quantidade de semente de linho presente na dieta e o conteúdo de ácido  $\alpha$ -linolénico que se encontra na carne, obtendo um  $R^2$  de 0.99, no caso do músculo *L. lumborum* e da perna.

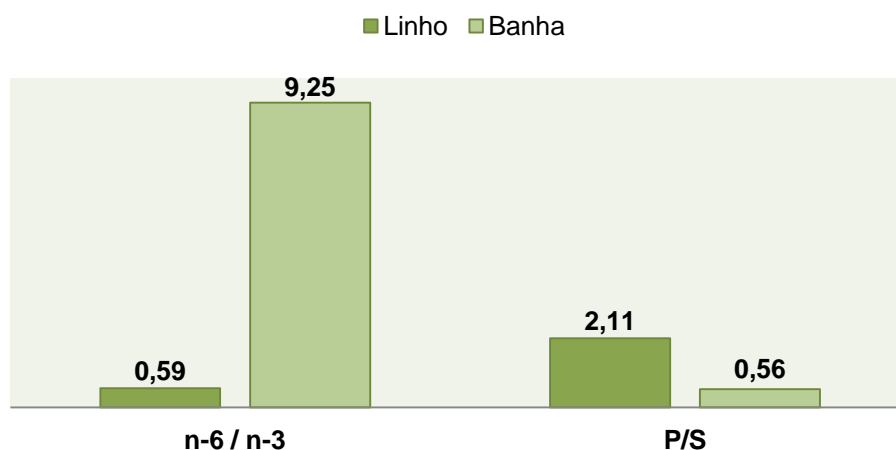


**Figura 9** - Efeito da natureza da gordura na percentagem de ácidos gordos saturados, polinsaturados, LC PUFA, n-6 e n-3 (valores médios).

Adicionalmente, as dietas com linho permitiram uma diminuição dos AGS (23% vs. 32,7% com linho e banha, respetivamente) e de MUFA (24% e 44,3% com linho e banha, respetivamente) (Colin *et al.*, 2007). Como consequência, o rácio n-6 / n-3 decresceu de 9,3, nos animais alimentados com dietas com banha, para 0,59 nas dietas com linho (Figura 10). O valor médio para o músculo LD do coelho, não tendo em conta a dieta, é de 5,47 (Combes, 2004) enquanto a recomendação para a dieta humana é um rácio de 5, segundo Martin (2001). Simopoulos (2002) admitiu que um rácio n-6 / n-3 mais baixo é o mais desejável para a redução das doenças cardiovasculares, mas que este valor pode diferir consoante a doença e o estado fisiológico do doente.

O rácio P / S, que segundo Pla *et al.* (2007) deverá ser superior a 0,45, foi de 2,1 nos animais alimentados com dietas com linho e de 0,6 nos animais alimentados com banha, o que está de acordo com Bianchi *et al.* (2009), que concluíram que a inclusão de linho nas dietas permitiu obter valores mais favoráveis nos rácio P / S e n-6 / n-3. Estes valores refletiram o elevado teor de n-3 que a dieta com linho forneceu aos animais.

### Efeito da gordura sobre os rácios n-6 / n-3 e P / S



**Figura 10** - Efeito da natureza da gordura sobre os rácios n-6 / n-3 e P / S (valores médios).

No período total de ensaio verificaram-se sete óbitos nos animais alimentados com dietas com banha – 4 deles da dieta BB e 3 da dieta BA. Embora a mortalidade não tenha sido alvo de tratamento estatístico e não se possa afirmar que haja influência da alimentação na morte dos animais, o facto é que alguns autores referem que a presença de ácidos gordos polinsaturados, especialmente os n-3, e um rácio n-6 / n-3 baixo nas dietas, podem contribuir para o bom desenvolvimento do sistema imunitário do coelho. Além disso, láparos no pós-desmame, cujas mães foram alimentadas com dietas ricas em n-3, demonstraram maior viabilidade e resistência a patologias digestivas e respiratórias (Fernández-Carmona *et al.*, 2000; Gidenne e Garcia, 2006).

## 5. Oxidação lipídica

A carne proveniente dos animais alimentados com dietas com linho resistiu pior à oxidação lipídica induzida do que a carne dos animais das dietas com banha - a inclusão de gorduras vegetais nas dietas, especialmente ricas em PUFA, reduziu a estabilidade oxidativa da carne (Bianchi *et al.*, 2006; Zsédely *et al.*, 2008). Resultados semelhantes foram obtidos por Zsédely *et al.* (2008), ao suplementar coelhos com 2% de linho – após 2 meses de armazenamento, a oxidação, medida através de TBARS, foi superior na carne dos animais suplementados. No entanto, Kouba *et al.* (2008), num trabalho realizado em coelhos,

concluíram que a carne dos animais alimentados com dietas ricas em linho não foi menos resistente à oxidação do que a carne proveniente das dietas controle, ao fim de 1 e 10 dias de conservação. Petracci *et al.* (2009) referem, na sua revisão, que o músculo da perna foi o que apresentou maior suscetibilidade à oxidação, bem como a carne processada.

Segundo Gigaud (2006), os defeitos de qualidade da carne começam a ser perceptíveis, a nível olfativo, a partir dos níveis 2-3 mg MDA / kg de carne, medido por TBARS, tornando-se imprópria para consumo a partir de valores superiores a 5 mg / kg. No presente trabalho, os valores obtidos foram bastante superiores, levando a crer que a capacidade de resistência da carne à oxidação estava bastante comprometida.

A análise da alfarroba como antioxidante não é de fácil interpretação. Makris e Kefalas (2004) referiram que a avaliação do comportamento antioxidante da alfarroba é difícil, pois os resultados são sempre referentes não apenas a um componente, mas sim à ação conjunta de um grupo de compostos fenólicos.

Esperava-se que houvesse um efeito decorrente da inclusão da alfarroba e isso não se verificou. No entanto, a observação dos valores do quadro 16 sugere que a alfarroba retardou a oxidação, quando a gordura utilizado foi linho. No caso da banha, o valor de oxidação com 12% de alfarroba foi superior ao valor com 0%, o que não seria de esperar. Esta ausência de efeito poderá estar relacionada com o tempo que decorreu entre o abate dos animais e a realização das análises, mas também com as condições de armazenamento (Popova *et al.*, 2009) – a suscetibilidade da carne à oxidação induzida pode ter-se sobreposto a qualquer possível efeito antioxidante da alfarroba.

## 6. Colesterol plasmático

Os resultados obtidos para os níveis de colesterol plasmático afastam-se do que seria esperado. O esperado seria existir um efeito definido da natureza da gordura, com a banha a aumentar os níveis de colesterol devido ao elevado teor de AGS. No entanto, a análise do quadro 17 não nos permitiu tirar esta conclusão devido à interação verificada entre a gordura e a alfarroba.

Outro resultado esperado, que já havia sido obtido por Falcão e Cunha (comunicação pessoal), seria que a inclusão de alfarroba provocasse um efeito na diminuição dos níveis de colesterol plasmático. Zunft *et al.* (2003) demonstraram, em humanos, que a utilização de fibra insolúvel, obtida a partir da alfarroba, foi eficaz na redução do teor de colesterol,

especialmente dos níveis de LDL, mantendo os teores de HDL constantes. No entanto, verificou-se o efeito contrário – a adição de alfarroba aumentou os níveis de colesterol quando a gordura adicionada foi a banha.

Desta forma, torna-se difícil a avaliação do potencial que a alfarroba poderá ter para atenuar os níveis de colesterol plasmático.

## **Conclusões e considerações finais**

A inclusão de um alimento rico em semente de linho permitiu aumentar o teor de ácidos gordos polinsaturados na carne de coelho, especialmente o ácido 18:3 n-3. Ao mesmo tempo, permitiu uma redução na quantidade de ácidos gordos saturados, tornando a gordura da carne mais saudável e equilibrada. A alteração do perfil de ácidos gordos foi possível sem penalizar as performances produtivas dos animais.

O excesso de ácidos gordos polinsaturados leva ao aumento da suscetibilidade da carne à oxidação, podendo penalizar a sua qualidade.

A alfarroba penalizou o índice de conversão dos animais e não demonstrou ter capacidade antioxidante. Notou-se uma menor oxidação na carne dos animais alimentados com LA quando comparado com LL, mas a análise dos resultados quando a gordura foi banha é de difícil interpretação. Do mesmo modo, não se observaram alterações benéficas nos teores de colesterol com a inclusão de alfarroba.

Existem ainda diversos pontos deste trabalho que poderiam ser melhorados. Deveria ser aferido o custo, em ambiente de produção, da inclusão de semente de linho e o que isso representa no valor do produto final. Seria, de igual modo, necessário um estudo mais completo sobre a suscetibilidade oxidação, através de utilização de uma metodologia mais estável e reprodutível, bem como uma simulação de condições de conservação e preparação de carcaça. A análise das características sensoriais e organolépticas da carne quer em fresco, quer em vários períodos de armazenamento, deveria também ser contemplada, tal como a medição da perda de água e o pH, de forma a pormenorizar o estudo do efeito dos ácidos gordos polinsaturados sobre a qualidade do produto final.

Por último, deveria efetuar-se uma análise à composição da alfarroba utilizada, determinando a quantidade e tipo de taninos, de forma a tentar estabelecer uma relação entre a composição e o seu efeito como antioxidante.

**Referências bibliográficas**

- Alfaia, C.M.M., Ribeiro, V.S.S., Lourenço, M.R.A., Quaresma, M.A.G., Martins, S.I.V., Portugal, A.P.V., Fontes, C.M.G.A., Bessa, R.J.B., Castro, M.L.F. e Prates, J.A.M. (2006). Fatty acid composition, conjugated linoleic acid isomers and cholesterol in beef from crossbred bullocks intensively produced and from Alentejana purebred bullocks reared according to Carnalentejana-PDO specifications. *Meat Science*, 72, 425-436.
  
- Anuário Vegetal 2006. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. GPP – Gabinete de Planeamento e Política. ISBN: 972-8029-18-7. [http://www.gpp.pt/pbl/period/Anuario\\_Veg\\_2006.pdf](http://www.gpp.pt/pbl/period/Anuario_Veg_2006.pdf) (26-07-2012).
  
- Avallone, R., Plessi, M., Baraldi, M. e Monzani, A. (1997). Determination of chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua*): protein, fat, carbohydrates and tannins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10, 166-172.
  
- Batifoulouier, F., Mercier, Y., Gatellier, P. e Renerre, M. (2002). Influence of vitamin E on lipid and protein oxidation induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-activated MetMb in microsomal membranes from turkey muscle. *Meat Science*, 61, 389-395.
  
- Bayrak A., Kiralan M., Ipek A., Arslan N., Cosge B. e Khawar K.M. (2010). Fatty acid composition of linseed (*Linum usitatissimum* L.) genotypes of different origin cultivated in turkey. Organic Agriculture Program. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24, 1836-1842.
  
- Bean, L.D. e Leeson, S. (2002). Fatty acid profiles of 23 samples of flaxseed collected from commercial feed mills in Ontario in 2001. Department of Animal and Poultry Science, University of Guelph, Guelph Ontario, Canada. *Journal of Applied Poultry Research*, 11, 209-211.
  
- Bessa, R., Alves, I., Belo, C.C., Pinto, J., Caseiro, A.T. e Barros, V. (2007). Produção de carne de bovino enriquecida em ácidos gordos ómega-3. EZN.

- Bessa, R.J.B., Santos-Silva, J., Ribeiro, J.M.R., Portugal, A.V. (2000). Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products in linoleic acid conjugated isomers. *Livestock Production Science*, 63, 201-211.
  
- Bianchi, M., Petracci, M. e Cavani, C. (2006). Effects of dietary inclusion of dehydrated lucerne and whole linseed on rabbit meat quality. *World Rabbit Science*, 14, 247-258.
  
- Bianchi, M., Petracci, M. e Cavani, C. (2009). The influence of linseed on rabbit meat quality. *World Rabbit Science*, 17, 97-107.
  
- Carrilho, M.C., López, M. e Campo, M.M. (2009). Effect of the fattening diet on the development of the fatty acid profile in rabbits from weaning. *Meat Science*, 83, 88-95.
  
- Casado, C., Moya, V.J., Fernández, C., Pascual, J.J., Blas, E. e Cervera, C. (2010). Diet digestibility in growing rabbits: effect of origin and oxidation level of dietary fat and vitamin E supplementation. *World Rabbit Science*, 18, 57-63.
  
- Castellini, C., Dal Bosco, A., Bernardini, M. e Cyril, H.W. (1998). Effect of dietary vitamin E on the oxidative stability of raw and cooked rabbit meat. *Meat Science*, 50, 153-161.
  
- Chen, P. e Li, F.C. (2008). Effect of dietary fat addition on growth performance, nutrient digestion and caecum fermentation in 2-3 months old meat rabbits. 9<sup>th</sup> *World Rabbit Science*, Verona, Italy, June 10-13, 589-594.
  
- Chizzolini, R., Zanardi, E., Dorigoni, V. e Ghidini, S. (1999). Calorific value and cholesterol content of normal and low-fat meat and meat products. *Trends in food science & Technology*, 10, 119-128.
  
- Colin, M., Raguene, N., Le Berre, G. e Prigent, A.Y. (2007). Influence of the increase of omega 3 fatty acid level in the feed by extruded flax seed incorporation (Tradi-Lin®) on meat lipids and hedonic characteristics of the rabbit retail cuts. // *Congresso Ibérico de Cunicultura*, Vila Real, Trás-Os-Montes, Portugal. 5-6 Junho, 21-25.



- Combes, S. (2004). Valeur nutritionnelle de la viande de lapin. *INRA Production Animales*, 17, 373-383.
  
- Combes, S. e Dalle Zotte, A. (2005). La viande de lapin: valeur nutritionnelle et particularités technologiques. *11èmes Journées de la Recherche Cunicole*, Paris, 20-30 Novembre 2005, 167-180.
  
- Corino, C., Lo Fiego, D.P., Macchioni, P., Pastorelli, G., Di Giancamillo A., Domeneghini, C. e Rossi, R. (2007). Influence of dietary conjugated linoleic acids and vitamin E on meat quality, and adipose tissue in rabbits. *Meat Science*, 76, 19-28.
  
- Corino, C., Pastorelli, G., Pantaleo, L., Oriani, G. e Salvatori, G. (1999). Improvement of color and lipid stability of rabbit meat by dietary supplementation with vitamin E. *Meat Science*, 52, 285-289.
  
- Cunha, A. C. (2001). Ontogénese lipídica associada à embriogénese somática e ao crescimento de cultura in vitro de linho (*Linum usitatissimum* L.). Universidade do Minho, Departamento de Biologia, 9-11. <http://repositorium.sdum.uminho.pt/handle/1822/3326> (15/05/2012).
  
- Dal Bosco, A., Castellini, C., Bianchi, L. e Mugnai, C. (2004). Effect of dietary  $\alpha$ -linolenic acid and vitamin E on the fatty acid composition, storage stability and sensory traits for rabbit meat. *Meat Science*, 66, 407-413.
  
- Dalle Zotte, A. (2004). Le lapin doit apprivoiser le consommateur: Avantages diététiques. *Viandes Produits Carnés*, 23, 161-167.
  
- Dalle Zotte, A. (2002). Perception of rabbit meat quality and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality. *Livestock Production Science*, 75, 11-32.
  
- Dalle Zotte, A. e Szendrő, Z. (2011). The role of rabbit meat as functional food - review. *Meat Science*, 88, 319-331.

- Davies, R.R e Davies, J. (2003). Rabbit gastrointestinal physiology. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 6, 139-153.
- de Bias, J.C., Santomá, G., Carabaño, R. e Fraga, M. (1986). Fiber and starch levels in fattening rabbit diets. *Journal of Animal Science*, 63, 1897-1904.
- de Blas, C. e Mateos, G.G. (2010). Feed Formulation. In C. de Blas & J. Wiseman (Eds.) *Nutrition of the Rabbit*, 2<sup>nd</sup> Edition, 222-232.
- Dolz, S. (1996). Utilización de grasas y subproductos lipídicos en monogástricos. XII Curso de Especialización FEDNA. Madrid. 7-8 Noviembre.
- EGRAN – European Group on Rabbit Nutrition (2001). Technical note: Attempt's to harmonize chemical analyses of feeds and faeces, for rabbits feed evaluation. *World Rabbit Science*, 9, 57-64.
- Eneji, C.A., Ikpeme, C.A., Anya, M.I. e Oko, O.O. (2011). Shelf-life of rabbit meat under different storage conditions. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 9, 134-138.
- Enser, M., Richardson, R.I., Wood, J.D., Gill, B.P. e Sheard, P.R. (2000). Feeding linseed to increase the n-3 PUFA of pork: fatty acid composition of muscle, adipose tissue, liver and sausages. *Meat Science*, 55, 201-212.
- Falcão-e-Cunha, L., Freire, J.P. e Gonçalves, A. (1996). Effect of fat level and fiber nature on performances, digestibility, nitrogen balance and digestive organ in growing rabbits. In: *Proceedings of the 6th World Rabbit Congress*, Toulouse, France, July 9-12, 1996, Ed F. Lebas, Vol 1, 157-162.
- Falcão-e-Cunha, L., Peres, H., Freire, J.P. e Castro-Solla, L. (2004). Effects of alfafa, wheat bran or beet pulp with or without sunflower oil, on caecal fermentation and digestibility in the rabbit. *Animal Feed Science and Technology*, 117, 131-149.
- Fang, J.L., Vaca, C.E., Valsta, L.M. e Mutanen, M. (1996). Determination of DNA adducts of malonaldehyde in humans: effects of dietary fatty acid composition. *Carcinogenesis*, 17, 1035-1040.

- FAOSTAT - <http://faostat3.fao.org/home/index.html#VISUALIZE> (01-08-2012)
  
- Fernández, C., Cobos, A. e Fraga, M.J. (1994). The effect of fat inclusion on diet digestibility in growing rabbits. *Journal of Animal Science*, 72, 1508-1515.
  
- Fernández, C. e Fraga, M.J. (1996). The effect of dietary fat inclusion on growth, carcass characteristics, and chemical composition of rabbits. *Journal of Animal Science*, 74, 2088-2094.
  
- Fernández-Carmona, J., Pascual, J. J. e Cervera, C. (2000). The use of fat in rabbit diets. In *Proc. 7<sup>th</sup> World Rabbit Congress*, 4-7 July, Valencia, Spain.
  
- Ferrari, C.K. (1998). Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: Mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicas. *Revista de Nutrição*, Campinas, 11, 3-14.
  
- Forrester-Anderson, I. T., Mcnitt, J., Way, R. e Way, M. (2006). Fatty acid content of pasture-reared fryer rabbit meat. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 715-719.
  
- Gandemer, G. (2002). Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Science*, 62, 309-321.
  
- Gasmi-Boubaker, A., Bergaoui, R., Khaldi, A., Mosquera-Losada, M.R. e Ketata, A. (2007). Firts attempt to study carob pulp utilization in rabbit feeding. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6, 1269-1272.
  
- Gidenne, T. e Garcia, J. (2006). Nutritional strategies improving the digestive health of the weaned rabbit. In L. Maertens, & P. Coudert (Eds.), *Recent advances in rabbit sciences*, Melle, Belgium:ILVO, 229-238.
  
- Gigaud, V. (2006). Valeur nutritionnelle de la viande de lapin et influence du regime alimentaire sur la composition en acides gras. *ITAVI - Station de Recherches Avicoles*, Octobre 2006.

- Gigaud, V. e Combes, S. (2008). The effect of decreasing the omega 6 / omega 3 ratio in feed on fatty acid content of rabbit meat to meet human dietary recommendations. *9<sup>th</sup> World Rabbit Science*, June 10-13, 2008, Verona, Italy, 1353-1358.
  
- Gray, J.I. (1978). Measurement of lipid oxidation: A review. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 55, 539-546.
  
- Guessous, F., El Hilali, A. e Johnson, W. (1988). Influence du taux d'incorporation de la pulpe de caroube sur la digestibilité et l'utilisation des rations par des ovins à l'engraissement. *Reproduction Nutrition Development*, 28, 93-94.
  
- Hernández, P. (2008). Enhancement of nutritional quality and safety in rabbit meat. *9<sup>th</sup> World Rabbit Congress*, June 10-13, 2008, Verona, Italy, 1287-1300.
  
- Hernández, P. e Dalle Zotte, A. (2010). Influence of diet on rabbit meat quality. In C. de Blas & J. Wiseman (Eds.) *Nutrition of the Rabbit*, 2<sup>nd</sup> Edition, 163-177.
  
- Hernández, P. e Gondret, F. (2006). Rabbit meat quality. In L. Maertens, & P. Coudert (Eds.) *Recent advances in rabbit sciences*, Melle, Belgium:ILVO, , 269-290.
  
- Hernández, P., Pla, M., Oliver, M.A. e Blasco, A. (2000). Relationships between meat quality measurements in rabbits fed with three diets of different fat type and content. *Meat Science*, 55, 379-384.
  
- Heuzé V., Sauvant D., Tran G., Lebas F. e Lessire M. (2012). *Carob (Ceratonia siliqua)*. Feedipedia.org. - A project by INRA, CIRAD, AFZ and FAO. <http://trc.zootechnie.fr/node/320>. Last updated on May 14, 2012, 10:20. (05-06-2012)
  
- Horrocks, L.A. e Yeo, Y.K. (1999). Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA). *Pharmacological Research*, 40, 211-225.

- Jehl, N., Gidenne, T. e Le Roux, J.F. (1996). Measurement of the bacterial fibrolytic activity in the caecum and in the soft faeces of the rabbit. In: Lebas, F. (Ed.), *Proceedings of the Sixth Congress of the WRSA*, Toulouse, France, 9–12 July, Vol. I, 199–203.
  
- Jouany, J.P. (1982). Dosage des acides gras volatils (AGV) et des alcools dans les contenus digestifs, les jus d'ensilage, les cultures bactérienne et les contenus de fermenteurs anaerobies. *Science des Aliments*, 2, 131–144.
  
- Khanbabaee, K. e van Ree, T. (2001). Tannins: Classification and definition. The Royal Society of Chemistry, *Natural Product Reports*, 18, 641-649.
  
- Kotrotsios, V. N., Christaki V., Bonos, M. e Florou-Paneri, C. (2010). The effect of dietary carob pods on nutrient digestibility in weaning, growing and fattening periods of pigs. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 8, 779-782.
  
- Kouba, M., Benatmane, F., Blochet, J.E. e Mourot, J. (2008). Effect of a linseed diet on lipid oxidation, fatty acid composition of muscle, perirenal fat, and raw and cooked rabbit meat. *Meat Science*, 80, 829-834.
  
- Kumazawa, S., Taniguchi, M., Suzuki, Y., Shimura, M., Kwon, M.S. e Nakayama, T. (2002). Antioxidant activity of polyphenols in carob pods. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 373-377.
  
- Ladikos, D. e Lougovois, V. (1990). Lipid oxidation in muscle foods: A review. *Food Chemistry*, 35, 295-314.
  
- Lo Fiego, D.P., Santoro, P., Macchioni, P., Mazzoni D., Piattoni, F., Tassone, F. e De Leonibus, E. (2004). The effect of dietary supplementation of vitamins C and E on the  $\alpha$ -tocopherol content of muscles, liver and kidney, on the stability of lipids, and on certain meat quality parameters of the longissimus dorsi of rabbits. *Meat Science*, 67, 319-327.
  
- Lopez-Bote, C.J., Rey, A.I., Sanz, M., Gray, J.I. e Buckley, D.J. (1997). Dietary vegetable oils and  $\alpha$ -tocopherol reduce lipid oxidation in rabbit muscle. *The Journal of Nutrition*, 127, 1176-1182.

- Lopez-Bote, C.J., Sanz, M., Rey, A., Castaño, A. e Thos, J. (1998). Lower lipid oxidation in the muscle of rabbits fed diets containing oats. *Animal Feed Science Techonology*, 70, 1-9.
- Love, J.D. e Pearson, A.M. (1971). Lipid oxidation in meat and meat products – a review. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 48, 547-549.
- Maertens, L. (1998). Fats in rabbit nutrition: a review. *World Rabbit Science*, 6, 341-348.
- Maertens, L. e Struklec, M. (2006). Technical note: Preliminary results with a tannin extract on the performance and mortality of growing rabbits in an enteropathy infected environment. *World Rabbit Science*, 14, 189-192.
- Maertens, L., Huyghebaert, G. e De Groote, G. (1986). Digestibility and digestible energy content of various fats for growing rabbits. *Cuni-Science*, 3, 7-14.
- Maertens, L., Huyghebaert, G. e Delezie, E. (2008). Fatty acid composition of rabbit meat when fed a linseed based diet during different periods after weaning. *9<sup>th</sup> World Rabbit Congress*, June 10-13, 2008, Verona, Italy, 1381-1386.
- Makris, D.P. e Kefalas, P. (2004). Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a source of polyphenolic antioxidants. *Food Technology and Biotechnology*, 42, 105-108.
- Marounek, M. e Vovk, S.J. (1995). Distribution of activity of hydrolytic enzymes in the digestive tract of rabbits. *British Journal of Nutrition*, 73, 463-469.
- Martin, A. (2001). Apport nutritionnel conseillé pour la population française. *Reproduction Nutrition Development*, 41, 119-128.
- McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D. e Morgan, C.A. (2002). Animal Nutrition. Pearson Education Limited, 6<sup>th</sup> Ed, 32-40.

- Mercier, Y., Gatellier, P. e Renerre, M. (2004). Lipid and protein oxidation in vitro and antioxidant potencial in meat from Charolais cows finished on pasture or mixed diet. *Meat Science*, 66, 467-473.
  
- Miyagusku, L., Thomazini, M., Kuaye, A.Y e Castillo, C.J. (2007). TBAR values assessment in irradiated chicken legs. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, 66, 45-49.
  
- Nakamura, M.T. e Nara, T.Y. (2004). Structure, function and dietary regulation of delta6, delta5 and delta9 desaturases. *Annual Review of Nutrition*, 24, 345-376.
  
- Navarro, E.L.F. (2011). Determination of milk odd and branched fatty acids in tropical countries. Case study: Cuba. Master's Dissertation. Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University. Downloaded from :  
[http://lib.ugent.be/fulltxt/RUG01/001/789/891/RUG01-001789891\\_2012\\_0001\\_AC.pdf](http://lib.ugent.be/fulltxt/RUG01/001/789/891/RUG01-001789891_2012_0001_AC.pdf)
  
- Niki, E., Yoshida, Y., Saito, Y. e Noguchi, N. (2005). Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 338, 668-676.
  
- O'Fallon, J.V., Busboom, J.R., Nelson, M.L. e Gaskins, C.T. (2007). A direct method for fatty acid methyl ester synthesis: Application to wet meat tissues, oils, and feedstuffs. *Journal of Animal Science*, 85, 1511-1521.
  
- Official Journal of the European Union, 22-11-2011. Regulation (EU) No 1169/2011 of the European Parliament and of the Council of 25 October 2011. Annex XIII, Reference Intakes, Part B – Reference intakes for energy and selected nutrients other than vitamins and minerals (adults).
  
- Oliver, M.A., Guerrero, L., Diaz, I., Gispert, M., Pla, M. e Blasco, A. (1997). The effect of fat-enriched diets on the perirenal fat quality and sensory characteristics of meat from rabbits. *Meat Science*, 47, 95-103.
  
- Owen, R.W., Haubner, R., Hull, W.E., Erben, G., Spiegelharder, B., Bartsch, H. e Haber, B. (2003). Isolation and structure elucidation of the major individual polyphenols in carob fibre. *Food and Chemical Toxicology*, 41, 1727-1738.

- Parigi Bini, R., Chieiricato, G.M. e Lanacri, D. (1974). I mangimi grassati nel coniglio in accrescimento. Digeribilità e utilizzazione energética. *Rivista Zootecnica e Veterinaria*, 2, 193-202.
- Peiretti, G. (2012). Effects of dietary fatty acids on lipid traits in the muscle and perirenal fat of growing rabbits fed mixed diets. *Animals*, 2, 55-67.
- Petracci, M., Bianchi, M. e Cavani, C. (2009). Development of rabbit meat products fortified with n-3 polyunsaturated fatty acids. *Nutrients*, 1, 111-118.
- Pla, M. (2004). Effects of nutrition and selection on meat quality. Proceedings – 8<sup>th</sup> *World Rabbit Congress*, Puebla, Mexico, September 7-10, 2004, 1337-1348.
- Pla, M., Hernández, P., Ariño, B., Ramírez, J. A. e Díaz, I. (2007). Prediction of fatty acid content in rabbit meat and discrimination between conventional and organic production systems by NIRS methodology. *Food Chemistry*, 100, 165-170.
- Pla, M., Zomeño, C. e Hernández, P. (2008). Effect of the dietary n-3 and n-6 fatty acids on rabbit carcass and meat quality. 9<sup>th</sup> *World Rabbit Congress*, June 10-13, 2008, Verona, Italy, 1425-1430.
- Popova, T., Marinova, P., Vasileva, V., Gorinov, Y. e Lidji, K. (2009). Oxidative changes in lipids and proteins in beef during storage. *Archiva Zootechnica*, 12:3, 30-38.
- Priolo, A., Lanza, M., Biondi, L., Pappalardo, P. e Young, O.A. (1998). Effect of partially replacing dietary barley with 20% carob pulp on post-weaning growth, and carcass and meat characteristics of Comisana lambs. *Meat Science*, 50, 355-363.
- Priolo, A., Waghorn, G.C., Lanza, M., Biondi, L. e Pennisi, P. (2000). Polyethylene glycol as a means for reducing the impact of condensed tannins in carob pulp: effects on lamb growth performance and meat quality. *Journal of Animal Science*, 78, 810-816.
- Santé-Lhoutellier, V., Engel, E. e Gatellier, Ph. (2008). Assessment of the influence of diet on lamb meat oxidation. *Food Chemistry*, 109, 573-579.



- SAS (1991). SAS System for Linear Models, 3<sup>rd</sup> Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Silva, F.A., Borges, M.F. e Ferreira, M.A. (1999). Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Química Nova*, 22, 94-103.
- Simopoulos, A.P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother*, 56, 365-79.
- Thurnhofer, S. e Vetter, W. (2005). A gas chromatography/electron ionization-mass spectrometry-selected ion monitoring method for determining the fatty acid pattern in food after formation of fatty acid methyl esters. *J Agric Food Chem.*, 53, 8896-8903.
- Tokur, B., Korkmaz, K. e Ayas, D. (2006). Comparison of two thiobarbituric acid (TBA) method of monitoring lipid oxidation on fish. E.U. *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences 2006*, 23, 331-334.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. e Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597.
- Vasta, V., Pennisi, P., Lanza, M., Barbagallo, D., Bella, M. e Priolo, A. (2007). Intramuscular fatty acid composition of lambs given a tanniniferous diet with or without polyethylene glycol supplementation. *Meat Science*, 76, 739-745.
- Vasta, V., Priolo, A., Scerra, M. e Hallett, K.G. (2009).  $\Delta 9$  desaturase protein expression and fatty acid composition of longissimus dorsi muscle in lambs fed green herbage or concentrate with or without added tannins. *Meat Science*, 82, 357-364.
- Williams, C.M. (2000). Dietary fatty acids and human health. Review article. *Annals de Zootechnie*, 49, 165-80.
- Wood, J. D., Richardson, R. I., Nute, G. R., Fisher, A. V., Campo, M. M., Kasapidou, E., Sheard, P. R. e Enser, M. (2003). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science*, 66, 21-32.

- Würsch, P. (1979). Influence of tannin-rich carob pod fiber on the cholesterol metabolism in the rat. *The Journal of Nutrition*, 109, 685-692.
- Xiccato, G. (1999). Feeding and meat quality in rabbits: a review. *World Rabbit Science*, 7, 75-86.
- Xiccato, G. (2010). Fat digestion. In C. de Blas & J. Wiseman (Eds.) *Nutrition of the Rabbit*, 2<sup>nd</sup> Edition, 163-177.
- Zsédely, E., Tóth, T., Eiben, C., Virág, G., Fabián, J. e Schmidt, J. (2008). Effect of dietary vegetable oil (sunflower, linseed) and vitamin E supplementation on the fatty acid composition, oxidative stability and quality of rabbit meat. *9<sup>th</sup> World Rabbit Congress*, June 10-13, 2008, Verona, Italy, 1473-1478.
- Zunft, H.J.F., Lüder, W., Harde, A., Haber, B., Graubaum, H.J., Koenick, C. e Grünwald, J. (2003). Carob pulp preparation rich in insoluble fibre lowers total and LDL cholesterol in hypercholesterolemic patients. *European Journal of Nutrition*, 42, 235-242.

## Anexos

### Anexo I

Ficha Técnica Valomega (fornecida por Reagro – Importação e Exportação, S.A.).

# VALOMEGA

## MATÉRIA-PRIMA 100% EXTRUDIDA, RICA EM ÔMEGA 3 E ENERGIA

**CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS :**  
Valores em % por Kg bruto

Humidade	<12	Ómega 3 ALA	15,8
Proteína Bruta	19,5-21	NDF	21
Gordura Bruta	27-28	ADF	9
Celulose Bruta	9-14	Lenhina	4,9
Cinza Bruta	4,1	Lisina	0,79
Amido	5-8	Metionina	0,36
Açúcares	3	Met.+Cis	0,77
Cálcio	0,2	Treonina	0,72
Fósforo	0,7	Triptófano	0,32

**VALORIZAÇÃO NUTRICIONAL :**

Galinhas Poedeiras		Ruminantes	
EM em Kcal/Kg	3580	UFL	1,53
Porcos		UFV	1,50
ED em Kcal/Kg	4315	PDIN (g/kg)	165
EN em Kcal/Kg	3270	PDIE (g/kg)	420
		PDIA (g/kg)	150

**CARACTERÍSTICAS TRADI-LIN® :**  
“Os grãos de linho Tradi-lin® são sementes de linho seleccionadas pelo seu teor em Ómega-3 e tratadas termicamente de modo específico para favorecer a sua digestão pelos animais.”

**it3 = 108**

**Disponibilidade dos óleos :**  
A utilização digestiva dos óleos está ligada à sua cinética de libertação:  
**75% ≤ MG livre biodisponível ≤ 85 %**  
(Serres L, 1993 Chimie III 18)

**Factores anti-nutricionais :**  
O tratamento “Reagro” integra :  
\*a inactivação dos FAN cianogénicos dos grãos de linho  
**HCN ≤ 10 mg/kg**  
(Norma NF V03-772)  
\*a inactivação das lipases responsáveis pela peroxidação dos óleos  
**Índice peróxido ≤ 10 meq O<sub>2</sub> /kg MG**  
(Norma ISO 3960)

**Anti-oxidante natural**  
Os linhanos, compostos di-fenólicos  
8 g / Kg de Tradi-Lin ®  
(Identificação e dosagem HPLC)

**COMPOSIÇÃO DO VALOMEGA, PRODUTO 100% EXTRUDIDO :**  
70% de grãos de linho Tradi-lin®, 30% de sub--produtos de cereais e oleaginosas

**MODO DE EMPREGO :**  
Introduzir no alimento entre 4 a 6%, conforme indicação técnica.

**APRESENTAÇÃO :**  
Farinha grosseira  
Granel, Big-bags de 500 e 900 kg

**ARMAZENAMENTO:**  
Armazenar em local seco e ao abrigo da luz

**VALIDADE:**  
Utilizar até 90 dias após a data de fabrico

Março/2010

NOTA: Esta ficha foi elaborada para ajudar os utilizadores na sua tarefa. As informações transmitidas são dignas de confiança mas são apenas de valor indicativo, não comprometem a empresa para além das garantias dadas nos contactos estabelecidos com os clientes. Para mais informações, consultar o nosso departamento técnico

Reagro – Importação e Exportação, S.A. – Av. de Roma, 15 – 2º Esq. – 1049-045 LISBOA  
Tel.: 912 306 691 – Fax: 217 916 066 – email: [inove.tec@reagro.pt](mailto:inove.tec@reagro.pt)

## Anexo II

Determinação da oxidação lipídica após indução *in vitro*.

Adaptado de Mercier *et al.* (2004), Meat Science, 66, 467-473.

### Reagentes químicos e soluções

- Curva Padrão  
1,1,3,3-TetraEtoxiPropano (Sigma, NI 624F)
- Tampão fosfato de sódio 0,1M a pH 7,0  
Di-hidrogenofosfato de sódio monohidratado (Merck, NI 283) 13,799 g/l. Acertar o pH a 7,0
- Solução de sulfato ferroso 50 mM (extemporânea)  
 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  p.a. (Merck, NI 125) 13,8955 g/l.
- Solução de Peróxido de hidrogénio 100 mM (extemporânea)  
 $\text{H}_2\text{O}_2$  30% termoestável (Merck, NI 323) 10 ml/l
- BHT  
BHT p.a. (Sigma, NI 609)
- Solução de TBA  
Ácido 2-tiobarbitúrico p.a. (Merck, NI 617) 1% (w/v) em NaOH (Merck, NI 82) 50 mM (2 g/l).  
Agitar a solução no ultra-sons (à temperatura ambiente) para que o TBA se dissolva totalmente.
- Solução de TCA 2,8%  
Ácido Tricloroacético (Merck, NI 20) 2,8% (w/v) em água destilada
- *n*-Butanol  
*n*-Butanol p.a. (Merck, NI 336)

### Etapa 1 - Indução da Oxidação lipídica *in vitro* (reacção de Fenton)

1. Pesar 1,00 g de carne fresca/congelada (descongelada) para 2 frascos plásticos;
2. Adicionar 10 ml de Tampão Fosfato de Sódio 0,1 M a pH 7,0 (1);
3. Homogeneizar com Ultra-Turrax (haste S25N-10G), sobre gelo, durante 1 min (4x15 seg) a 20.000 rpm;
4. Transferir o homogeneizado para tubos de vidro (com mais de 10 ml de capacidade);
5. Adicionar 100 µl de Solução  $\text{FeSO}_4$  50 mM (2) e  $\text{H}_2\text{O}_2$  100 mM (3) (0,5:1 mM);
6. Tapar e agitar rapidamente os tubos. Agitar no vortex;

7. Aquecer em banho-maria 37 °C durante 30 min, com agitação a 200 rpm;
8. Após incubação, parar a reacção de oxidação com 2mg de BHT (1 grânulo) / 10 ml (4) (0,02%);
9. Transferir aliquotas do homogeneizado para ependorfs (cerca de 2 ml / ependorf) e guardar a - 80 °C até análise.

## **Etapas 2 - Determinação da Oxidação lipídica**

1. Transferir 0,5 ml para 2 tubos de vidro 10ml;
2. Adicionar 0,25 ml de solução TBA 1% (5);
3. Adicionar 0,25 ml de solução TCA 2,8% (6);
4. Agitar lentamente no vortex para que a amostra não suba no tubo;
5. Ferver em banho-maria durante 10 min;
6. Deixar arrefecer à temperatura ambiente durante 20 min;
7. Adicionar 2 ml de *n*-Butanol (7);
8. Agitar no vortex e centrifugar a 3500 rpm durante 10 min;
9. Ler as absorvências a 535 nm da fase superior do tubo (*n*-Butanol + cromóforo) contra o branco de *n*-Butanol

**Anexo III**

Transesterificação direta de amostras não liofilizadas

Adaptado de O'Fallon *et al.* (2007), Journal of Animal Science, 85, 1511-1521.

**Reagentes químicos e soluções**

- Solução hidróxido de potássio em água, 10N KOH
- Solução ácido sulfúrico em água, 24 N (12 M) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- Padrão interno – 17:0 (0,5 mg / ml em metanol)

**Procedimento:**

1. Pesar para tubos de 16 ml,
  - a. 1 g de amostra (não-liofilizada),
  - b. 0,5 g de amostra liofilizada,
  - c. 40 µl de óleo
2. Adicionar 1 ml de Padrão interno (0,5 mg / ml), 0,7 ml de solução 10N KOH e 5,3 ml de metanol e agitar em vortex (10 seg).
3. Incubar os tubos em banho de água a 55 °C durante 1,5 h e agitar em vortex (5 seg) de 20 em 20 min.
4. Arrefecer os tubos em água fria (+/- 10 min) e adicionar 0,58 ml de solução 24N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.
5. Agitar os tubos energicamente (vortex 10 seg) e após o aparecimento de precipitado incubar novamente a 55°C durante 1.5 h e agitar em vortex (5 seg) de 20 em 20 min.
6. Arrefecer os tubos em água fria (+/- 10 min), adicionar 3 ml de hexano e agitar em vortex durante 3 min.
7. Centrifugar os tubos durante 5 min e retirar a fase de hexano para um novo tubo que já contém 0,5 g de sulfato de sódio anidro e agitar em vortex (10 seg).
8. Centrifugar os tubos durante 5 min e retirar a fase de hexano para viais de GC.

**Anexo IV**

Efeito da natureza da gordura e da inclusão de alfarroba na ingestão de alimento e no crescimento, desde o desmame até ao abate 28-70 dias (valores médios).

	Natureza da gordura		Alfarroba		DPR <sup>1</sup>	Efeito estatístico	
	Linho	Banha	0%	12%		Gordura	Alfarroba
	n <sup>2</sup>	22	17	19	20		
<b>Peso vivo (g)</b>							
42 dias		1443	1498	1477	1465	182,2	0,363
70 dias		2861	3007	2938	2930	226,4	0,057
<b>1º período (28-42 dias de idade)</b>							
Ingestão diária de alimento (g)		108,7	119,0	106,8	121,0	14,64	0,020
Aumento de peso diário (g)		57,5	61,5	57,2	61,7	9,45	0,153
Índice de conversão		1,90	1,96	1,89	1,97	0,198	0,312
<b>2º período (42-70 dias de idade)</b>							
Ingestão diária de alimento (g)		167,4	175,4	166,5	176,2	21,99	0,270
Aumento de peso diário (g)		50,8	53,5	52,2	52,1	6,31	0,196
Índice de conversão		3,29	3,25	3,16	3,38	0,287	0,696
<b>Período total (28-70 dias de idade)</b>							
Ganho diário de peso (g)		52,3	55,5	53,7	54,1	4,72	0,049
Índice de conversão		2,80	2,81	2,72	2,89	0,157	0,832

<sup>1</sup> DPR – Desvio padrão residual.

<sup>2</sup> n – número de observações (coelhos) em cada dieta.

**Anexo V**

Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba no coeficiente de utilização digestiva aparente (%) das várias frações da dieta, obtido a partir das fezes recolhidas durante a 8ª semana de idade (valores médios).

	Natureza da gordura		Alfarroba		DPR <sup>1</sup>	Efeito estatístico	
	Linho	Banha	0%	12%		Gordura	Alfarroba
n <sup>2</sup>	24	17	21	20			
<b>Coeficientes de utilização digestiva</b>							
Matéria orgânica	63,1	62,3	64,3	61,1	0,02	0,136	<0,0001
Proteína bruta	73,8	74,7	78,7	69,8	0,23	0,235	<0,0001
Gordura bruta	90,2	84,4	87,5	87,0	0,03	<0,0001	0,599
NDF	28,5	31,2	30,7	28,9	0,03	0,012	0,094
ADF	25,2	26,5	25,7	26,1	0,03	0,238	0,750
Celulose (ADF-ADL)	26,2	27,8	24,5	29,7	0,05	0,363	0,001

<sup>1</sup> DPR – Desvio padrão residual.

<sup>2</sup> n – número de observações (coelhos) em cada dieta.



## Anexo VI

Efeito da natureza da gordura e da presença de alfarroba no rendimento em carcaça e peso dos órgãos digestivos.

Natureza da gordura	Linho		Banha		DPR <sup>1</sup>	Efeito estatístico		
Alfarroba	0%	12%	0%	12%		Gordura	Alfarroba	Gordura x alfarroba
Dieta (n <sup>2</sup> )	LL (12)	LA (11)	BB (8)	BA (9)				
n <sup>2</sup>	12	12	8	9				
Rendimento em carcaça	64,1	61,7	63,7	62,9	2,08	0,510	0,022	0,255
Aparelho digestivo - sem fígado (g kg <sup>-1</sup> )	162,8	179,6	167,5	164,5	22,14	0,467	0,331	0,169
Fígado (g kg <sup>-1</sup> )	36,6	37,2	37,4	34,3	6,11	0,576	0,525	0,348
pH estômago (g kg <sup>-1</sup> )	1,5	1,6	1,5	1,5	0,29	0,651	0,575	0,375
Estômago cheio (g kg <sup>-1</sup> )	32,2	36,5	41,9	39,3	7,14	0,009	0,694	0,139
Conteúdo estômago (g kg <sup>-1</sup> )	24,5	28,6	33,0	30,8	6,43	0,013	0,651	0,132
Estômago vazio (g kg <sup>-1</sup> )	7,7	8,0	8,9	8,6	1,16	0,017	0,912	0,446
Ceco cheio (g kg <sup>-1</sup> )	45,1	50,2	40,5	42,1	10,80	0,072	0,333	0,614
Conteúdo ceco (g kg <sup>-1</sup> )	33,9	38,7	29,8	32,0	9,27	0,074	0,240	0,658
Ceco vazio (g kg <sup>-1</sup> )	11,2	11,5	10,7	10,1	2,03	0,155	0,801	0,508

<sup>1</sup> DPR – Desvio padrão residual.

<sup>2</sup> n – número de observações (coelhos) em cada dieta.